



Influence de la gestion des centrales de traitement d'air des réseaux de ventilation de bâtiments sur le développement d'aérosols microbiens

Luisa Fernanda Gonzalez Herrera

► To cite this version:

Luisa Fernanda Gonzalez Herrera. Influence de la gestion des centrales de traitement d'air des réseaux de ventilation de bâtiments sur le développement d'aérosols microbiens. Génie des procédés. Ecole des Mines de Nantes, 2014. Français. NNT : 2014EMNA0136 . tel-01061168

HAL Id: tel-01061168

<https://theses.hal.science/tel-01061168>

Submitted on 5 Sep 2014

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Thèse de Doctorat

Luisa Fernanda GONZALEZ H.

*Mémoire présenté en vue de l'obtention du
grade de Docteur de l'École Nationale Supérieure des Mines de Nantes
sous le label de L'Université Nantes Angers Le Mans*

École doctorale : *SPIGA*

Discipline : *Génie des Procédés*

Spécialité : *Environnement*

Unité de recherche : **GEPEA UMR CNRS 6144**

Soutenue le 28/03/2014

Thèse N° : 2014 EMNA0136

Influence de la gestion des centrales de traitement d'air des réseaux de ventilation de bâtiments sur le développement d'aérosols microbiens

JURY

Directeur de Thèse :
Co-encadrants :

M^{me}. Laurence LE COQ, Professeur, Ecole des Mines de Nantes
M^{me}. Aurélie JOUBERT, Maître-assistante, Ecole des Mines de Nantes

Rapporteurs :

M. Dominique THOMAS, Professeur, Université de Lorraine
M^{me}. Anne-Marie DELORT, Directrice de Recherche, CNRS

Membres du jury :

M. Yves ANDRES, Professeur, Ecole des Mines de Nantes
M. Manuel RODRIGUEZ SUSA, Professeur, Université de los Andes, Colombie

Membres invités :

M^{me}. Myriam LIARD, Ingénieur de recherche, Veolia Environnement Recherche et Innovation
M. Christophe RENNER, Responsable Pôle du Pôle TEG, Veolia Environnement Recherche et Innovation

Remerciements

En premier lieu, j'adresse mes remerciements à Dieu pour m'encourager à toujours aller vers l'avant ainsi que pour m'avoir permis de venir en France et réaliser ce projet de longue haleine qu'Il m'a aidé à mener jusqu'à son terme.

Je remercie le groupe Veolia et son centre de recherche VERI pour le financement de cette thèse CIFRE. Je remercie également le laboratoire GEPEA et l'ensemble du département DSEE de l'Ecole des Mines de Nantes pour l'accueil sympathique.

Je tiens à remercier chaleureusement mes encadrants de thèse. D'une part, M. Xavier CHAUCHERIE, Mme Nelsie BERTHELOT et Mme Claire DELAHAYE, qui ont fait partie de l'équipe VERI qui a suivi la première partie de mes travaux de thèse. J'ai particulièrement apprécié leur disponibilité et leurs apports à l'avancement de cette thèse. Je remercie également M. Christophe RENNER, M. Emmanuel BIROT et Mme Myriam LIARD pour m'avoir accompagné pendant la partie finale de ma thèse, que ce soit pour les corrections de ce manuscrit ou pour les expériences sur site. Un grand merci pour leur regard industriel et leur soutien.

D'autre part, je pense à l'équipe EMN qui a m'accompagné pendant cette expérience. Je remercie affectueusement Mme Laurence LE COQ, ma directrice de thèse. J'ai beaucoup apprécié sa rigueur scientifique, ses exigences et sa disponibilité quand j'avais une question, un problème, un doute. Un grand merci à Mme Aurélie JOUBERT, mon encadrante de thèse, pour sa disponibilité, et son accompagnement, que ce soit pour une expérience au labo, la préparation d'une présentation ou pour répondre à mes questions, ainsi que pour sa patience au moment de corriger mes textes en français. Je remercie également M. Yves ANDRES, car lui aussi a toujours été disponible pour une discussion, une expérience au labo, un conseil, ainsi que pour ses suggestions et corrections. Un grand merci pour leur soutien sans faille. C'était un grand plaisir de travailler avec eux.


Je remercie Mme Anne-Laure DELORT et M. Dominique THOMAS pour avoir accepté le travail de rapporteurs de ma thèse. Je remercie amicalement M. Manuel RODRIGUEZ pour avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse, ce qui est un grand plaisir pour moi, après les années passées à l'Université de Los Andes où il a été mon professeur et mon responsable dans les différents projets de recherche que nous avons menés, ainsi que le précurseur de ma venue en France.

Je remercie également l'équipe technique de l'EMN qui s'est toujours montrée disponible en apportant des solutions pour les étapes expérimentales de cette thèse. Merci à M. Yvan GOURIOU pour la construction du banc d'essais développé pour cette thèse, ainsi que pour ses conseils et les discussions. Merci à M. François-Xavier BLANCHET et M. Jérôme MARTIN pour la réalisation des programmes informatiques et

l'installation des capteurs sur site. Je remercie Thomas BERGANTZ, Eric CHEVREL, Katell CHAILLOU pour leur disponibilité et leur aide précieuse lors des expériences. Je remercie également Dominique BRIAND et Marie-Laure LEFEBVRE pour leur aide dans tous les aspects administratifs, leur efficacité et disposition. Je pense à Claire GERENTE et Félicie THERON avec qui j'ai eu l'occasion de travailler pendant mon stage de master et pendant l'encadrement de TP.

Je remercie affectueusement Audrey FORTHOMME, docteur de l'EMN pour son amitié et pour ses conseils, ainsi que pour sa disponibilité pour m'apprendre les techniques microbiologiques Je remercie Kevin MORISSEAU et Vincent GAILLARD pour leur sympathie et leurs travaux de stage dont une partie a été intégrée dans ces travaux de thèse. Mes remerciements vont maintenant à mes collègues de bureau : Sari, Pierre, Séverine, Marie, Imen, Subodh, Mario, Ayoub, Jenny, Maxime, Monica, Khalida... Je remercie aussi mes autres collègues doctorants et doctorantes du DSEE pour les discussions, les pauses cafés, les échanges multiculturels, les tours en vélo, les sorties. Ces trois années de thèse n'auraient pas pu être aussi agréables sans eux : Olivier, Vanessa, Cristian, Espérance, Trinh, Anne-Laure, Laura, Younes, Charlotte, David, Jonathan, Nadine, Nadia, Stéphane, Ernesto, Vincent, Djihad, Fréd, Louis, Radwan, Gidéon, Caro, Shivaji... Je n'oublie pas Véronique GOURT ma professeure de français à l'EMN qui m'a encouragé toujours à progresser dans l'étude de cette belle langue.

Je remercie affectueusement ma famille qui a toujours su m'écouter, me soutenir et m'encourager malgré la distance qui nous sépare. Ecouter la voix de ma mère Betty, de mon père Fernando, de mes tantes Luz Marina et Marlén ainsi que les autres membres de ma famille, a été un grand plaisir. Ils ont su dessiner un sourire sur mon visage après chaque conversation. Un grand merci pour mes amies et amis colombiens et étrangers qui de près ou de loin m'ont offert leur amitié inconditionnelle.



RESUME

Les performances de filtration des filtres de CTA vis-à-vis de particules et d'aérosols microbiens (AM) ont été étudiées ainsi que l'influence des conditions opératoires sur le comportement de microorganismes collectés sur les filtres. A l'**échelle du laboratoire**, une mini CTA ayant deux étages de filtration en série a été développée et validée pour l'étude de filtres prototypes ayant des géométries industrielles. Trois types de filtres de différentes efficacités ont été considérés : G4, F7 et F9 selon la norme EN 779. Deux configurations de filtres ont été étudiées : 1) G4 plan plissé/F7 à poches et 2) F7/F9 à poches. Les filtres ont été colmatés séquentiellement par des particules d'alumine, qui assurent une fraction minérale, puis du riz micronisé qui apporte le champignon *Penicillium chrysogenum* et assure une fraction organique agissant comme substrat pour les microorganismes. Enfin, un AM composé d'endospores de *Bacillus subtilis* et de spores d'*Aspergillus niger* a été nébulisé pour la contamination des filtres. Après colmatage, des périodes de marche/arrêt de la ventilation de différentes durées (10 j ou 6 semaines) ont été simulées. Lors des reprises de la ventilation, des comptages de particules et d'AM en aval des filtres ont été effectués. Les principaux résultats sont : (i) les filtres placés en 2^{ème} étage présentent un colmatage plus faible que ceux du 1^{er} étage de filtration, (ii) survie de *B. subtilis*, croissance de *P. chrysogenum* et décroissance d'*A. niger* sur les filtres quelle que soit la période d'arrêt de ventilation étudiée, et (iii) lors des reprises de ventilation, il n'a pas été observé de relargage d'AM pour la fraction échantillonnée.

D'autre part, deux CTA à **pleine échelle** ont été étudiées pendant 6 mois. Une CTA ayant deux étages de filtration avec une configuration G4 plan plissé/F7 à poches, traite l'air extérieur et le souffle vers des locaux desservis. L'autre CTA correspond à l'extraction de l'air vicié d'un local pour le rejeter vers l'extérieur. La perte de charge des filtres, l'humidité relative, et la température de l'air ont été suivies en continu. L'efficacité des filtres vis-à-vis des particules et des aérosols microbiens a été mesurée une fois par mois. Une méthodologie originale de suivi mensuel de la concentration des microorganismes collectés sur les filtres a été mise en œuvre. Les principaux résultats sont : (i) faible évolution de la perte de charge du filtre placé en 2^{ème} étage, (ii) efficacité des filtres G4 comparable à celle des filtres G4 prototypes, (iii) efficacité du filtre F7 plus faible que celle des filtres prototypes, ce qui peut être expliqué par une différence de vitesse de filtration entre les deux échelles, (iv) le filtre G4 de la CTA-extraction contient une concentration de microorganismes 10 fois plus élevée que celle du filtre G4 de la CTA-soufflage après 6 mois de fonctionnement.

Mots clés : Qualité de l'air, CTA, aérosols microbiens, filtration de particules

ABSTRACT

Title: Influence of Air Handling Units (AHU) management of ventilation systems of buildings on microbial aerosols behavior

Filtration performances of Air Handling Units (AHU) filters regarding particles and microbial aerosols have been studied, as well as the influence of the AHU operational conditions on behavior of microorganisms collected on the filters. A **lab-scale** AHU with two successive filtration stages was developed and validated for the study of prototype filters with industrial geometries. Three types of filters of different efficiency have been considered: G4, F7 and F9 according to EN 779 Standard. Two configurations of filters were considered: 1) G4 pleated/F7 bag and 2) F7/F9 bag. Filters were sequentially clogged by alumina particles which assured a mineral fraction, and then by micronized rice particles which provides the fungi *Penicillium chrysogenum* and assures an organic fraction which acts as a substrate for microorganisms. Finally, a microbial aerosol composed by endospores of *Bacillus subtilis* and spores of *Aspergillus niger* was nebulized for filters contamination. After clogging, stops and restarts of ventilation were simulated for different durations (10 days or 6 weeks). During restarts of ventilation, particles and microbial aerosols samplings were performed downstream of the filters. Main results are: (i) level of clogging is significantly less important for the 2nd filtration stage than for the first one, (ii) survival of *B. Subtilis*, growth of *P. Chrysogenum* and decline of *A. niger* on the filters whatever the period of time studied, and (iii) during restarts of ventilation, microbial aerosols releasing was not detected for sampled fraction.

Moreover, two **full-scale** AHU were studied during 6 months. One of the AHU studied is equipped with two filters in series: a G4 pleated filter in 1st stage and a F7 bag filter in 2nd stage. This AHU treats the outdoor air to blow it towards the indoor environments. The other one extracts the indoor air to reject it back outdoors. The filters pressure drop, relative humidity and temperature of the air were measured continuously. Filters efficiency regarding particles and microbial aerosols were measured once a month. An original methodology for the monthly estimation of the concentration of microorganisms on the filters was implemented. Main results are: (i) no significant evolution of the filter pressure drop in 2nd stage, (ii) efficiency of G4 filters are comparable to the prototype filters one, (iii) efficiency of F7 filters are lower than prototype filters one, which can be explained by differences of filtration velocity between the two scales, (iv) after 6 months of operation, concentration of microorganisms on G4 filter of the AHU of extraction is 10 times higher than the G4 filter one of AHU who treats outdoor air.

Key words: Air quality, AHU, microbial aerosols, particles filtration

SOMMAIRE

Introduction générale	1
Chapitre 1. Etude bibliographique.....	7
I. Introduction.....	8
II. Les particules dans l'air et les aérosols microbiens.	8
II.1. Définition et formation des aérosols	8
III. Les aérosols et la qualité de l'air.....	21
III.1. Aérosols atmosphériques urbains.....	21
III.2. Qualité microbiologique de l'air	22
IV. Les aérosols microbiens et les impacts sur la santé	32
V. Techniques de génération, échantillonnage et caractérisation des aérosols.....	34
V.1. Techniques de génération d'aérosols	34
V.2. Echantillonnage d'aérosols	42
V.3. Caractérisation d'aérosols	54
VI. Centrales de traitement d'air	66
VI.1. Filtration de particules – rappel théorique	68
VI.2. Comportement des microorganismes sur les filtres à air	77
VII. Conclusion du chapitre.....	83
Chapitre 2. Matériels et méthodes.....	87
I. Introduction.....	88
II. Caractérisation des médias fibreux filtrants utilisés dans cette étude.....	89
II.1. Présentation des filtres - Classification.....	89
II.2. Propriétés de structure et de contexture	92
III. Description des aérosols « modèles » étudiés	98
III.1. Fraction minérale (Al_2O_3)	99
III.2. Fraction organique (riz micronisé).....	99
III.3. Consortium microbien.....	101
IV. Choix des techniques de génération, d'échantillonnage et de quantifications des aérosols étudiés	104
IV.1. Génération des aérosols particuliers et microbiens	104
IV.2. Echantillonnage des aérosols microbiens	106
IV.3. Technique de quantification des aérosols particuliers et microbiens	107
IV.4. Récapitulatif	109
V. Protocole d'extraction des microorganismes des filtres	110

VI.	Tests préliminaires de survie des deux souches sélectionnées	111
VI.1.	Test de vérification de la croissance de <i>B. subtilis</i> et d' <i>A. niger</i> dans une suspension de riz micronisé.....	111
VI.2.	Test de croissance de <i>B. subtilis</i> et d' <i>A. niger</i> sur des filtres G4 et F7 plans colmatés avec des particules Al ₂ O ₃ /riz micronisé.....	112
VII.	Conclusion du chapitre.....	115
Chapitre 3. Etude de l'influence des paramètres de gestion des CTA sur le développement d'aérosols microbiens – Echelle du laboratoire		117
I.	Introduction.....	118
II.	Développement du dispositif expérimental : mini CTA	118
II.1.	Conception et dimensionnement de la mini CTA.....	118
II.2.	Principe de fonctionnement :	121
II.3.	Validation expérimentale de la mini CTA	126
III.	Démarche expérimentale.....	132
III.1.	Description des configurations à tester	132
III.2.	Plan d'expériences	132
III.3.	Protocole expérimental	135
IV.	Résultats et discussion	138
IV.1.	Conditions de colmatage et de contamination des filtres.....	139
IV.2.	Concentration générée et distribution granulométrique du consortium microbien.....	147
IV.3.	Evolution de la perte de charge en fonction du temps	149
IV.4.	Performances des filtres vis-à-vis des filtres avec des aérosols particuliers (fraction inorganique et organique)	154
IV.5.	Efficacités des filtres vis-à-vis des aérosols microbiens (comptage UFC).....	165
IV.6.	Concentration des microorganismes sur les filtres	169
IV.7.	Perméabilité des filtres colmatés.....	170
IV.8.	Relargage des particules.....	171
V.	Conclusion du chapitre.....	172
Chapitre 4. Etude de l'influence des paramètres de gestion des CTA sur le développement d'aérosols microbiens – Suivi des performances de deux CTA à pleine échelle		175
I.	Introduction.....	176
II.	Description du site	176
III.	Démarche expérimentale.....	177
III.1.	Suivi des paramètres et campagnes d'essais	177

III.2. Suivi de la concentration de microorganismes sur les filtres – Méthodologie d'échantillonnage	179
III.3. Estimation du débit dans la gaine de la CTA9.....	182
IV. Résultats et discussion	183
IV.1. Concentrations et distribution granulométrique des aérosols dans les gaines de ventilation.....	183
IV.2. Performances des filtres	189
IV.3. Comparaison des performances des filtres à l'échelle laboratoire et en conditions réelles vis-à-vis des particules.....	193
IV.4. Paramètres climatiques	200
IV.5. Quantification de la concentration d'AM dans l'air	205
IV.6. Concentration des microorganismes sur les filtres	209
V. Conclusion du chapitre.....	212
Conclusion générale	217
Annexes	233

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1-1. Paramètres caractéristiques des distributions granulométriques (Renoux & Boulaud, 1998)	11
Tableau 1-2. Type de bioaérosols en fonction de leur taille (diamètre aérodynamique)	14
Tableau 1-3. Proportions moyennes des bioaérosols par rapport aux aérosols atmosphériques.	23
Tableau 1-4. Concentration des aérosols microbiens dans l'air extérieur.....	26
Tableau 1-5. Concentrations d'aérosols microbiens dans l'air intérieur.....	31
Tableau 1-6. Quelques maladies causées par des aérosols microbiens.....	34
Tableau 1-7. Avantages et inconvénients des systèmes de génération de bioaérosols.	41
Tableau 1-8. Avantages et inconvénients des techniques de collecte de bioaérosols	53
Tableau 1-9. Méthodes analytiques pour la caractérisation des aérosols microbiens. Adapté de (Douwes et al., 1996).	64
Tableau 1-10. Présence de microorganismes dans les CTA.	68
Tableau 1-11. Valeurs limites du nombre de Reynolds pour chaque régime d'écoulement.....	77
Tableau 2-1. Caractéristiques des médias filtrants commerciaux étudiés (données constructeur)	90
Tableau 2-2. Détermination du régime d'écoulement à travers les filtres prototypes en fonction de la vitesse de filtration.	97
Tableau 2-3. Taux de cendres et matière volatile des médias filtrants étudiés	98
Tableau 2-4. Propriétés des médias filtrants étudiés - Récapitulatif.....	98
Tableau 2-5. Aérosols étudiés et leur diamètre caractéristique.....	103
Tableau 2-6. Résumé des conditions de génération des particules dans la mini CTA.	109
Tableau 2-7. Résumé des conditions de génération des microorganismes dans la mini CTA.	110
Tableau 2-8. Résultats de l'essai de vérification de la croissance de <i>B. subtilis</i> et d' <i>A. niger</i> dans une solution de riz micronisé.	111
Tableau 2-9. Résumé des filtres plans colmatés avec de particules d' Al_2O_3 et du riz micronisé.	112
Tableau 2-10. Résultats de croissance microbienne sur filtres G4 et F7 colmatés avec des particules d' Al_2O_3 et du riz micronisé.	114
Tableau 3-1. Spécifications pour le design de la mini CTA	121
Tableau 3-2. Caractéristiques des caissons composant le module filtration dans la mini CTA.....	125
Tableau 3-3. Régime d'écoulement pour les différentes sections de la mini CTA.....	126
Tableau 3-4. Plan d'expériences.....	135
Tableau 3-5. Conditions climatiques pendant la phase de colmatage/contamination des filtres (AM : aérosol microbien)	140
Tableau 3-6. Masses générées d'alumine et de riz micronisé.....	141
Tableau 3-7. Résumé de la concentration d' Al_2O_3 et du riz micronisé pour chaque essai.	143
Tableau 3-8. Pertes de charges initiales des filtres étudiées pour un débit de $140 \text{ m}^3/\text{h}$ dans la mini CTA (vitesse débitante de $2,7 \text{ m/s}$).....	150
Tableau 3-9. Evolution de la perte de charge des filtres placés en premier étage avec les différents aérosols.....	150
Tableau 3-10. Masse déposée sur les filtres.....	156
Tableau 4-1. Concentration des particules mesurées dans les gaines de ventilation des 2 CTA (CTA9 et CEX9).	184

LISTE DES FIGURES

Figure 0-1. Les enjeux de la filtration de l'air	5
Figure 1-1. Diamètre de quelques particules atmosphériques. Adaptée de (Rault, 1991) et (Dickenson, 1997).	10
Figure 1-2. Distribution granulométrique de type normale et lognormale et leur équation caractéristique (Renoux & Boulaud, 1998)	12
Figure 1-3. Classification des aérosols	13
Figure 1-4. Schéma d'une cellule procaryote et formes des bactéries.	15
Figure 1-5. Schéma d'une cellule eucaryote et procaryote	17
Figure 1-6. Exemple des structures contenant des spores par reproduction asexuée des espèces fongiques (Prescott L. et al., 1995).	18
Figure 1-7. Exemples de mécanismes de dispersion de spores fongiques à travers une couche limite. Adaptée de (Deacon, 2006).	19
Figure 1-8. Relargage de spores soumises à un flux d'air tangentiel (1,6 m/s) en développement sur des panneaux muraux en gypse (Tucker et al., 2007).	19
Figure 1-9. Allure de la courbe de croissance microbienne, x. Adaptée de (Buchanan, 1918 et Augustin, 2005).	20
Figure 1-10. Distribution de moisissures dans l'air extérieur près d'un hôpital français (Sautour et al., 2009).	27
Figure 1-11. Fréquence de détection des bactéries trouvées dans 63 environnements de travail (IRSST - Goyer et al., 2001).	28
Figure 1-12. Fréquence de détection des espèces fongiques trouvées dans 63 environnements de travail (IRSST - Goyer et al., 2001).	29
Figure 1-13. Distribution de moisissures trouvée dans l'air intérieur des bureaux (Turin, Italie) et d'un hôpital français.	30
Figure 1-14. Le principe de la nébulisation pneumatique (Simon et al., 2009).	36
Figure 1-15. Les systèmes type « bulleur ».	38
Figure 1-16. Les systèmes de génération par voie sèche (Reponen et al., 1997).	40
Figure 1-17. Schéma du processus d'échantillonnage d'aérosols (Witschger, 1996).	42
Figure 1-18. Schéma de fonctionnement d'un impacteur en cascade (Source : Techniques de l'Ingénieur - Masclet & Marchand, 2004).	44
Figure 1-19. Dispositifs d'échantillonnage d'aérosols microbiens par impaction.	46
Figure 1-20. Comparaison entre l'AGI-30 et le Biosampler : schéma de principe et efficacité de collecte.	48
Figure 1-21. Biosampler. Figure adaptée par (Bonnevie-Perrier, 2008).	49
Figure 1-22. Echantillonneur CIP10-M et principe de collecte.	49
Figure 1-23. Exemples de filtres utilisés pour l'échantillonnage d'aérosols microbiens.	50
Figure 1-24. Cycloséparateur de taille de particules (Techniques de l'Ingénieur - Masclet & Marchand, 2004).	52
Figure 1-25. Schéma de fonctionnement de l'ELPI.	56
Figure 1-26. Schéma de principe de l'APS (TSI Incorporated, 2012).	56
Figure 1-27. Colonies de microorganismes cultivables sur milieux nutritifs.	58
Figure 1-28. Observation au microscope d'un mélange de <i>M. luteus</i> et <i>B. cereus</i> après utilisation du kit Live/Dead BacLight (Life Technologies).	60
Figure 1-29. Principe simplifié de la cytométrie de flux.	65

Figure 1-30. Concentration de cellules de <i>Pseudomonas fluorescens</i> collectées par l'AGI-30 mesurées par comptage à l'aide d'acridine orange, comptage par la méthode BacLight et par compteur de particules (Terzieva et al., 1996).	65
Figure 1-31. Processus dans une CTA (Techniques de l'Ingénieur - Bailly et al., 2001).	67
Figure 1-32. Evolution de la perte de charge et l'efficacité au cours de la filtration dynamique. Adapté de (INRS - Bémer et al., 2006).	70
Figure 1-33. Mécanismes de collecte de particules sur des média fibreux et allures des courbes efficacité vs diamètre de particules (Techniques de l'Ingénieur - Bailly et al., 2001).	72
Figure 1-34. Efficacités de collecte de bioaérosols par rapport à leur taille (Kuehn et al., 1991).	73
Figure 1-35. Classification des filtres (Techniques de l'Ingénieur - Bailly et al., 2001).	76
Figure 1-36. Comparaison de l'efficacité de différents filtres (Techniques de l'Ingénieur - Bailly et al., 2001).	76
Figure 1-37. Présence d'hyphes sur un filtre en fibres de coton-polyester. A : magnification x700, B : magnification x900 (Ahearn et al., 2004).	78
Figure 1-38. Concentrations de bactéries et de moisissures rencontrées dans une CTA, (Möritz et al., 2001).	82
Figure 2-1. Médias filtrants commerciaux étudiés dans le cadre de ces travaux	89
Figure 2-2. Photographie d'un filtre prototype G4 et observation des fibres au MEB.	91
Figure 2-3. Photographie d'un filtre prototype F7 et observation des fibres au MEB.	91
Figure 2-4. Photographie d'un filtre prototype F9 et observation des fibres au MEB.	92
Figure 2-5. Epaisseur des médias mesurée expérimentalement.	92
Figure 2-6. Caractéristiques de la structure poreuse des filtres, porosité et diamètre modal des pores, obtenues par porosimétrie au mercure.	94
Figure 2-7. Distribution différentielle des effectifs en fonction du diamètre de fibres mesuré par observation au MEB pour les médias G4 et F7.	95
Figure 2-8. Coefficient de perméabilité des filtres prototypes vierges G4, F7 et F9.	97
Figure 2-9. Eléments présents dans le riz micronisé détectés par analyse élémentaire (a) et par Fluorescence X (b). ..	100
Figure 2-10. Mycélium et appareil fructifère d' <i>A.niger</i> observés au microscope optique.	102
Figure 2-11. Spores d' <i>A.niger</i> observées au MEB.	102
Figure 2-12. Colonies fongiques sur milieu RBC et colonies bactériennes sur gélose nutritive.	102
Figure 2-13. Distribution granulométrique d'un aérosol contenant des endospores de <i>B. subtilis</i> mesurée par APS.	103
Figure 2-14. Evolution de la concentration de microorganismes dans le consortium et de la concentration générée lors d'un test préliminaire pour la mise au point du protocole de génération à l'aide du nébuliseur Palas AGK2000.	105
Figure 2-15. Protocole de préparation de la suspension de spores d' <i>A. niger</i>	105
Figure 2-16. Protocole de préparation de la suspension de spores de <i>B. subtilis</i>	106
Figure 2-17. Schéma du dispositif développé par Forthomme (2012) pour la génération d'aérosols microbiens et contamination des filtres plans.	113
Figure 2-18. Observation de spores d' <i>A. niger</i> sur les médias G4 et F7.	114
Figure 3-1. Schéma de principe. Premier étage : filtre plan plissé ; deuxième étage : filtre à poches.	123
Figure 3-2. Mini CTA.	124
Figure 3-3. Sécheur composé d'un group froid à effet Peltier	124
Figure 3-4. Système d'injection d'eau.	124
Figure 3-5. Ventilateur et échangeur de chaleur.	124
Figure 3-6. Configurations qui peuvent être testées dans la mini CTA.	125

Figure 3-7. Colmatage d'un filtre plan avec de la fluorescéine.	129
Figure 3-8. Jeu de vannes permettant l'échantillonnage séquentiel pour comptage des particules.....	130
Figure 3-9. Test de vérification de l'influence des vannes sur la granulométrie des particules	131
Figure 3-10. Enceinte hermétique.....	133
Figure 3-11. Démarche expérimentale des essais sur mini CTA.	134
Figure 3-12. Protocole de colmatage et contamination des filtres.	136
Figure 3-13. Procédure d'échantillonnage pour les filtres G4 plan plissés.	137
Figure 3-14. Procédure d'échantillonnage à $t = 3$ j des filtres à poches. Echantillonnage de la poche gauche.....	138
Figure 3-15. Procédure d'échantillonnage après incubation, à $t = 10$ ou 25 j des filtres à poches. Echantillonnage de la poche droite.	138
Figure 3-16. Suivi de la distribution granulométrique des particules d' Al_2O_3 pour l'essai T+2	144
Figure 3-17. Suivi de la distribution granulométrique des particules de riz micronisé pour l'essai CF2	144
Figure 3-18. Distribution granulométrique des particules d' Al_2O_3	146
Figure 3-19. Distribution granulométrique des particules de riz micronisé.	146
Figure 3-20. Concentrations des aérosols microbiens mesurées en amont des filtres (P1) pour chaque essai.	148
Figure 3-21. Distribution granulométrique de l'aérosol microbien	149
Figure 3-22. Evolution de la perte de charge ($\Delta P/\Delta P_0$) en fonction du temps, pour les filtres G4 en premier étage.	151
Figure 3-23. Evolution de la perte de charge ($\Delta P/\Delta P_0$) en fonction du temps, pour les filtres F7 en deuxième étage. .	153
Figure 3-24. Evolution de la perte de charge ($\Delta P/\Delta P_0$) en fonction du temps, pour les filtres F7 en premier étage.	154
Figure 3-25. Comparaison de l'évolution de la ΔP pour les filtres G4 et F7 en premier étage de filtration – Colmatage avec les particules d' Al_2O_3	158
Figure 3-26. Evolution de la perte de charge pour des filtres G4 et F7 plans avec des particules d'alumine.	159
Figure 3-27. Evolution de la perte de charge pour des filtres G4 et F7 plans avec des particules de riz micronisé.....	159
Figure 3-28. Evolution de la perte de charge (■), efficacités en nombre (Δ, \bigcirc) et en masse (▲, ●) des filtres G4 (en premier étage) pour les essais T+1 et CF1.....	162
Figure 3-29. Evolution de la perte de charge (■), efficacités en nombre (Δ, \bigcirc) et en masse (▲, ●) des filtres F7 (en deuxième étage) pour les essais T+1 et CF1.....	162
Figure 3-30. Evolution de la perte de charge (■), efficacités en nombre (Δ, \bigcirc) et en masse (▲, ●) des filtres F7 (en premier étage) pour les essais T+2 et CF2.....	163
Figure 3-31. Efficacités fractionnelles des filtres G4 (en premier étage) pour les essais T+1 et CF1 à différents degrés de colmatage.	163
Figure 3-32. Efficacités fractionnelles des filtres F7 (en deuxième étage) pour les essais T+1 et CF1 à différents degrés de colmatage.	164
Figure 3-33. Efficacités fractionnelles des filtres F7 (en premier étage) pour les essais T+2 et CF2 à différents degrés de colmatage.....	164
Figure 3-34. Concentrations des aérosols microbiens en amont et en aval de chaque filtre – Configuration 1	167
Figure 3-35. Concentrations des aérosols microbiens en amont et en aval de chaque filtre – Configuration 2	167
Figure 3-36. Concentrations des microorganismes sur les filtres – Configuration 1	168
Figure 3-37. Concentrations des microorganismes sur les filtres – Configuration 2	168
Figure 3-38. Coefficient de perméabilité des filtres colmatés par rapport aux filtres vierges.....	171
Figure 3-39. Distribution granulométrique des particules relarguées en aval du filtre F7 – Essai CF2.....	172

Figure 4-1. Schéma des 2 CTA (CTA9 et CEX9), des paramètres suivis et des points de prélèvement.	179
Figure 4-2. Filtre G4 préparé au laboratoire, contenant 20 coupons de média sur sa surface.	180
Figure 4-3. Filtre F7 préparé au laboratoire, contenant 20 coupons de média sur sa surface.	180
Figure 4-4. Evolution de la perte de charge (ΔP) et de l'efficacité en nombre (E_N) d'un filtre plan F7 percé avec des cordes de guitare en comparaison avec d'autres filtres F7 non percés.	181
Figure 4-5. Schéma des points de mesure de débit dans la CTA9 en amont des filtres (section carrée) et en aval des filtres (section circulaire).	183
Figure 4-6. Distribution granulométrique en nombre des aérosols en amont et en aval de chaque filtre de la CTA9. ...	186
Figure 4-7. Distribution granulométrique en nombre des aérosols en amont et en aval du filtre G4 - CEX9.	186
Figure 4-8. Diamètre moyen des particules en amont et en aval de chaque filtre des CTA9 et CEX9.	187
Figure 4-9. Distribution granulométrique en volume des particules provenant de l'air extérieur.	188
Figure 4-10. Concentrations massiques de particules PM10 détectées par deux stations de qualité de l'air du réseau de surveillance AIRPL situées à moins de 5 km des CTA étudiées.	189
Figure 4-11. Evolution de la perte de charge (ΔP) pour les filtres G4 et F7 de la CTA9.	190
Figure 4-12. Evolution de la perte de charge (ΔP) pour le filtre G4 de la CEX9.	190
Figure 4-13. Efficacité globale en nombre des filtres G4 et F7 de la CTA9 et du filtre G4 de la CEX9.	191
Figure 4-14. Efficacités fractionnelles des filtres G4 et F7 de la CTA9.	192
Figure 4-15. Efficacités fractionnelles du filtre G4 de la CEX9.	192
Figure 4-16. Evolution de la ΔP en fonction de la masse déposée sur les filtres G4 et F7 de la CTA9 en comparaison avec celle présentée par les filtres testés sur la mini CTA.	194
Figure 4-17. Comparaison de l'évolution de l'efficacité en nombre pour différentes tailles de particules en fonction de la masse déposée, pour les filtres G4 de la CTA9 et de la mini CTA.	194
Figure 4-18. Comparaison de l'évolution de l'efficacité en nombre pour différentes tailles de particules en fonction de la masse déposée, pour les filtres F7 de la CTA9 et de la mini CTA.	195
Figure 4-19. Modélisation de l'efficacité de collecte des filtres G4	198
Figure 4-20. Schéma de la structure possible du gâteau de particules formé sur les filtres	199
Figure 4-21. Humidité relative pour la CTA 9 pendant les 6 mois de suivi.	201
Figure 4-22. Humidité relative pour la CEX 9 pendant les 6 mois de suivi.	201
Figure 4-23. Température de l'air dans la CTA9 pendant les 6 mois de suivi.	204
Figure 4-24. Température de l'air dans la CEX9 pendant les 6 mois de suivi.	204
Figure 4-25. Concentration de microorganismes dans l'air dans la gaine de ventilation de la CTA9	208
Figure 4-26. Concentration de microorganismes dans l'air dans la gaine de ventilation de la CEX9.	208
Figure 4-27. Concentration de microorganismes totaux cultivables sur les filtres de la CTA9.	210
Figure 4-28. Microorganismes cultivables observés sur les différents milieux de culture extraits du filtre G4-CTA9 après 6 mois de fonctionnement.	211
Figure 4-29. Microorganismes cultivables observés sur les différents milieux de culture extraits du filtre G4-CEX9 après 6 mois de fonctionnement.	211

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1. Analyse de la structure poreuse des médias filtrants fibreux étudiés, par porosimétrie au mercure _____	234
Annexe 2. Protocoles de préparation de souches microbiennes et description des milieux de culture _____	236
Annexe 3. Validation aéraulique de la mini CTA _____	240
Annexe 4 Validation de la régulation des paramètres climatiques de la mini CTA _____	253
Annexe 5 Analyse microbiologique d'un filtre provenant d'une CTA d'extraction d'un bâtiment tertiaire _____	263

NOMENCLATURE

Lettres Grecques

α	Compacité du média fibreux (-)
ε	Porosité du média (-)
ε_i	Porosité inter-fibre (-)
ε_r	Porosité de rugosité de surface (-)
γ	Tension superficielle d'un liquide avec l'air (N.m^{-1})
λ	Libre parcours moyen des molécules gazeuses (m)
ν	Vitesse du fluide (m.s^{-1})
μ	Viscosité dynamique du fluide (Pa.s)
η	Efficacité unitaire de filtration (correspondant à une fibre) (-)
η_d	Efficacité unitaire de collecte d'une fibre par diffusion brownienne (-)
η_i	Efficacité unitaire de collecte d'une fibre par impaction inertielle (-)
η_r	Efficacité unitaire de collecte d'une fibre par interception directe (-)
ρ_f	Masse volumique du fluide (kg.m^{-3})
ρ_p	Masse volumique des particules (kg.m^{-3})
ρ_r	Masse volumique de référence ($1000 \text{ kg.m}^{-3} = 1 \text{ g.cm}^{-3}$)
ρ_p	Masse spécifique de l'aérosol (-)
θ	Ange de mouillage d'un liquide avec un matériau (°)
σ	Ecart type ou déviation standard
σ_g	Ecart type ou déviation standard géométrique
μ_{\max}	Vitesse maximale de croissance exponentielle des microorganismes
τ_p	Temps de relaxation de la particule (s)

Lettres latines

A	Quantité d'aérosols en amont du filtre
a	Quantité d'aérosols en aval du filtre
A_m	Rendement gravimétrique moyen (%)
B_0	Perméabilité intrinsèque du média filtrant neuf (m^2)
CE	Coefficient d'épuration des filtres
Cu	Coefficient de Cunningham (-)
C_N	Concentration de particules en nombre (part/cm^3)
C_M	Concentration de particules en masse (g/cm^3)
e	Epaisseur du média (m)
ΔP	Perte de charge du milieu poreux (Pa)

D_{diff}	Coefficient de diffusion	$(m^2.s^{-1})$
D_c	Diamètre intérieur du conduit	(m)
d_f	Diamètre de fibres	(m)
d_p	Diamètre des particules	(m)
d_{ae}	Diamètre aérodynamique des particules	(m)
d_{pores}	Diamètre de pores	(m)
d_{ev}	Diamètre du volume équivalent des particules	(m)
d_{St}	Diamètre de Stokes des particules	(m)
d_{opt}	Diamètre optique des particules	(m)
d_{50}	Diamètre médian de la distribution granulométrique des particules	(m)
d_i	Diamètre correspondant à l'intervalle i .	
D_C	Diamètre intérieur du conduit	(m)
E_C	Efficacité de capture	(%)
E_T	Efficacité de transmission dans le conduit	(%)
E_S	Efficacité de sélection	(%)
E_F	Efficacité de collecte	(%)
E	Efficacité globale de filtration d'un média fibreux	(-)
E_i	Efficacité fractionnelle de filtration du média fibreux	(-)
E_m	Efficacité moyenne pour les particules de $0,4 \mu m$ (selon la norme EN 779)	
E_{UFC}	Efficacité de filtration vis-à-vis de la fraction cultivable des microorganismes	(%)
H_{Ku}	Facteur hydrodynamique de Kuwabara	(-)
HR	Humidité relative de l'air	(%)
i	Indice pour dénoter les intervalles de taille pour le classement des particules	
I	Nombre d'interception	
k	Constante de Boltzmann	$(J.K^{-1})$
Kn_p	Nombre de Knudsen relatif à la particule	
LD	Limite de détection (UFC. m^{-3} ou UFC. cm^{-2})	
LQ	Limite de quantification (UFC. m^{-3} ou UFC. cm^{-2})	
n	Nombre d'échantillons considéré	(-)
N_i	Nombre de particules dans l'intervalle i	(-)
P	Pression	(Pa)
Pe	Nombre adimensionnel de Peclet	(-)
PE	Perméance des filtres	(%)
Q	Débit d'air	$(m^3.h^{-1})$

Re	Nombre adimensionnel de Reynolds (-)
Re _f	Nombre de Reynolds de fibres (-)
Re _{pores}	Nombre de Reynolds de pores (-)
RE	Rendement des filtres
St	Nombre adimensionnel de Stokes (-)
S	Surface de passage de la gaine (m ²)
S _{filtre}	Surface développée par le filtre (m ²)
s _f	Surface spécifique des fibres (m ⁻¹)
T	Température (°C ou K)
U ₀	Vitesse superficielle du fluide (m.s ⁻¹)
U _s	Vitesse de prélèvement (m.s ⁻¹)
v	Vitesse débitante (ou frontale) (m.s ⁻¹)
v _f	Vitesse de filtration (ou locale de filtration) (m.s ⁻¹)
V _{vide}	Volume du vide du filtre (m ³)
V _{fibre}	Volume des fibres (m ³)
V _{filtre}	Volume du filtre (m ³)
x _{max}	Concentration maximale de microorganismes (-)
x ₀	Concentration initiale de microorganismes (-)
Z	Paramètre représentatif de la sédimentation dans un conduit

Acronymes

ADEME : Agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie

ADN : Acide désoxyribonucléique

APS : Aerodynamic particle sizer

ARN : Acide ribonucléique

CIP : Capteur individuel de polluants microbiologiques

COV : Composés organiques volatiles

COVM : Composés organiques volatiles d'origine microbienne

CTA : Centrale de traitement de l'air

ELPI : Electrical low pressure impactor

GC : Chromatographie en phase gazeuse

HAP : Hydrocarbures aromatiques polycycliques

HEPA : High efficiency particulate air

HPLC : High-performance liquid chromatography
HVAC : Heating Ventilation and Air Conditioning
MEB : Microscopie électronique à balayage
MPPS : Most penetrating particle size
OMS : Organisation mondiale de la santé
PCR : Réaction de polymérisation en chaîne
PCS : Particle Counter Size
PM : Matière particulaire
QAI : Qualité de l'air intérieur
QMAI : Qualité microbiologique de l'air intérieur
SBS : Syndrome du bâtiment malsain
UE : Union Européenne
UFC : Unité formant colonie
ULPA : Ultra low penetration air
WHO : World health organization

Introduction générale

De nos jours, la protection de l'environnement et l'effet de la pollution sur la santé humaine sont pour les citoyens un sujet de débat, voire d'inquiétude. En effet, les problématiques liées au changement climatique, au développement économique durable, à l'exploitation intelligente des ressources naturelles, à la valorisation des déchets, à la protection de l'eau et de l'air, entre autres, sont toujours d'actualité, intéressant la société et le monde scientifique. Les organismes gouvernementaux et la communauté scientifique se mobilisent pour offrir aux populations un confort optimal doublé d'une sécurité sanitaire tout en intégrant une dimension d'efficacité énergétique. L'objectif est de trouver des solutions technologiques à ces différents enjeux, ainsi que des éléments de compréhension des phénomènes observés. Les travaux de recherche dont il est question dans cette thèse s'inscrivent dans cette dynamique scientifique.

La qualité de l'air est à l'ordre du jour dans les agendas des institutions gouvernementales et elle suscite de l'intérêt dans la communauté scientifique. Par exemple, récemment l'Union Européenne a proposé une nouvelle stratégie pour appliquer avec plus de rigueur les normes existantes et fixer de nouveaux objectifs pour 2020 et 2030 afin de limiter les émissions des principaux polluants atmosphériques aux échelles nationales. Les particules fines sont considérées avec une attention particulière puisqu'elles continuent de poser de graves problèmes de pollution de l'air avec des effets sur la santé tels que des allergies ou des maladies respiratoires (European Commission, 2013)¹. L'Union Européenne a fixé des valeurs seuils pour plusieurs polluants parmi lesquels se trouvent les particules fines PM_{2,5} (particules ayant un diamètre inférieur à 2,5 µm) et les PM₁₀ (particules ayant un diamètre inférieur à 10 µm). Pour les PM₁₀, deux seuils réglementaires doivent être respectés :

- 50 µg/m³ en moyenne journalière, à ne pas dépasser plus de 35 jours par an,
- 40 µg/m³ en moyenne annuelle.

Le dernier bilan de la qualité de l'air en Europe révèle qu'en 2011, les particules font partie des familles de polluants les plus problématiques. Pour les PM₁₀, les seuils ont été dépassés dans 17 pays dont la France, depuis l'entrée en vigueur de la législation européenne en 2005. En France, ces dépassements sont observés dans les zones qui se trouvent à proximité de grands axes routiers, ou de centres urbains à forte densité de trafic. De même, la présence d'industries et le chauffage résidentiel semblent être les causes de ces dépassements (CGDD, 2013)². Le Bilan de la qualité de

¹ Résumé pour les citoyens de la nouvelle stratégie proposée par la Commission Européenne (CE) adoptée le 18/12/2013. Disponible en version française sur le site web de la CE.

² Rapport No. 474 de Décembre 2013 du Commissariat Général au Développement Durable (CGDD).

l'air en France met en évidence 4 principaux secteurs émetteurs de PM₁₀ : les activités agricoles, l'industrie manufacturière, le secteur résidentiel et tertiaire et le transport routier (MEDDE, 2013). Cependant, dans l'air existe également un autre type de particules, moins connu. Il s'agit de particules de caractère biologique, qui sont soit des organismes vivants soit dérivés de ceux-ci, dénommées « bioaérosols ». Les bioaérosols sont des composants omniprésents parmi les aérosols atmosphériques et ils comprennent à la fois les microorganismes, mais aussi les fragments de toutes les variétés de formes vivantes (Matthias-Maser *et al.*, 1995). Il n'existe aujourd'hui aucune valeur seuil fixée par les directives européennes ou françaises. Cependant, les aérosols microbiens, au même titre que les particules fines, peuvent être à l'origine d'effets sur la santé.

Il est intéressant de regarder avec attention la qualité de l'air extérieur, puisqu'il est reporté dans la littérature qu'environ 50% de polluants extérieurs sont introduits dans les bâtiments et qu'ils ont un impact important sur la qualité de l'air intérieur (QAI) (Gustavsson *et al.*, 2010). De plus, il a été démontré que les habitants des pays industrialisés passent plus de 80% de leur temps en environnements intérieurs et respirent à peu près entre 15 et 20 m³ d'air par jour (ADEME, 2011). La QAI constitue donc un enjeu majeur en matière de santé publique, puisque dans l'air intérieur, des niveaux élevés de polluants comme des particules fines, des composés organiques volatils (COV) et des contaminants d'origine biologique, peuvent être observés (Yu *et al.*, 2009). Ces polluants peuvent être à l'origine de maladies infectieuses et respiratoires, ainsi que de malaises dans les environnements de travail. Or, un groupe de travail de l'OMS a introduit le terme SBS (pour Sick Building Syndrome) ou le « syndrome du bâtiment malsain » en 1983, pour désigner ces pathologies, apparemment sans cause attribuable, mais aujourd'hui il apparaît que la qualité de l'air pourrait être corrélée à ces symptômes.

Les bâtiments modernes sont pourvus de systèmes de ventilation mécanique qui ont deux principaux objectifs : le renouvellement de l'air dans les environnements intérieurs et l'évacuation de polluants. Des centrales de traitement d'air (CTA) sont souvent ajoutées dans les systèmes. De manière générale, les CTA sont composées d'une étape de mélange de l'air neuf et de l'air recyclé, d'une section de filtration, d'humidification, de séchage et de climatisation de l'air. Toutes ces étapes de traitement et de conditionnement de l'air ont pour objectif de satisfaire les exigences de confort des occupants, d'un procédé ou d'un laboratoire et d'assurer le bon état des bâtiments (Bailly *et al.*, 2001). Le traitement d'air s'applique notamment :

- aux bureaux,
- au domaine hospitalier et pharmaceutique,

- à l'industrie (agroalimentaire, cosmétique, biologie),
- à l'industrie de précision (microélectronique, automobile, horlogerie...),
- aux laboratoires de recherche (biotechnologie, chimie fine...),
- aux locaux particuliers (téléphonie, ordinateurs...).

Dans le cadre de cette thèse, le cas des CTA du secteur tertiaire sera étudié. Pour les exploitants des CTA, la gestion de celles-ci est un vrai défi car ils doivent trouver un optimum de fonctionnement pour :

- Pourvoir à la qualité de l'air intérieur exigée, qui dépendra de l'activité réalisée par les occupants des bâtiments,
- Optimiser la consommation énergétique dans le bâtiment, du fait que 1/3 de l'énergie totale requise pour le bâtiment est consommée par la ventilation pour des activités de conditionnement de l'air et du chauffage (Gustavsson, 2010),
- Procurer les conditions climatiques de confort pour les occupants,
- Réaliser des opérations de maintenance et de nettoyage tout en minimisant les risques pour le personnel qui réalise ces activités,
- Avoir des critères rigoureux pour remplacer intelligemment les filtres, d'un point de vue sanitaire et économique.

Pour l'élimination de particules dans l'air, il existe plusieurs procédés qui sont utilisés et dimensionnés en fonction du secteur d'activité, des applications visées, de la qualité de l'air souhaitée et de la qualité de l'air entrant dans le système. La littérature révèle que la séparation de la matrice air-particules peut s'obtenir par centrifugation, sédimentation gravitationnelle, lavage, précipitation électrostatique et par filtration (Lavoie, J. *et al.*, 1994; Le Coq, 2006). La filtration de particules s'impose comme un procédé très utilisé dans les Centrales de traitement d'air (CTA). Elle présente une efficacité intéressante, la maintenance et le fonctionnement sont relativement simples et plusieurs configurations et dimensions des filtres peuvent être adaptées aux installations permettant le conditionnement d'air. Le choix des filtres obéit à une analyse consciencieuse de la nature et de la concentration de l'aérosol atmosphérique à traiter, de la qualité de l'air requise en sortie et des contraintes de consommation énergétique du procédé. Le rôle de la filtration de l'air dans les CTA est donc d'améliorer la qualité de l'air et de réduire le transport de polluants de l'extérieur vers l'intérieur, notamment vis-à-vis des particules. La **Figure 0-1** schématise les enjeux de la filtration de l'air.

Les performances de filtration des CTA dépendent en particulier du type de particules en suspension à éliminer et l'humidité relative de l'air, mais d'autres facteurs comme la géométrie des filtres et la nature des médias ainsi que la stratégie de gestion de la CTA (par exemple, périodes d'arrêt ou marche réduite, nombre d'étages de filtration, fréquence de changement des filtres, etc.) sont également importants.

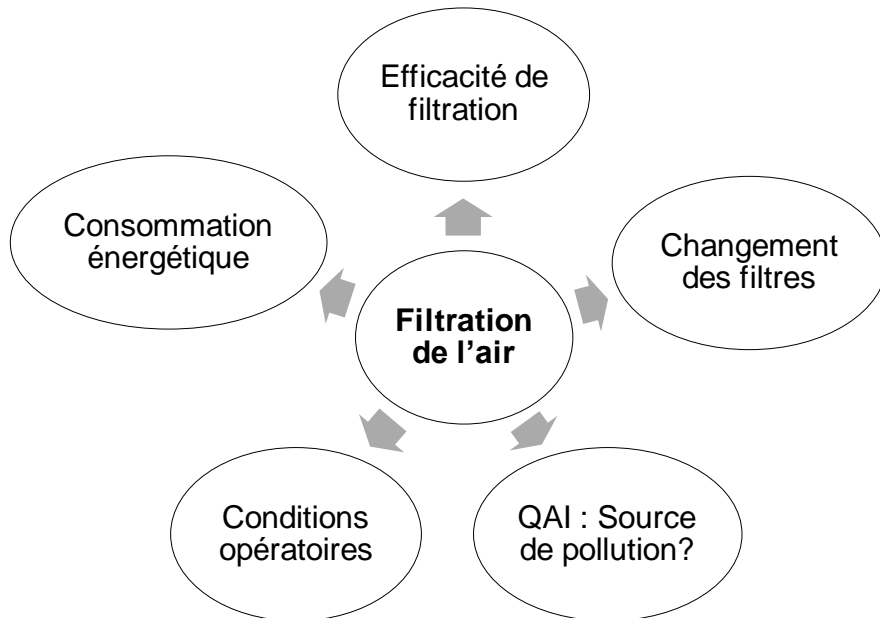


Figure 0-1. Les enjeux de la filtration de l'air

Dans ce contexte de compréhension des performances de filtration des CTA, une collaboration entre Veolia Environnement Recherche et Innovation (VERI) et le laboratoire GEPEA - EMN a été réalisée avec cette thèse afin d'étudier plus précisément : « *(l')Influence de la gestion des centrales de traitement d'air des réseaux de ventilation de bâtiments sur le développement d'aérosols microbiens* ». Des premiers éléments de réponse ont été fournis dans le cadre de la thèse de Bonnevie-Perrier (2008) issue également d'une collaboration entre le laboratoire GEPEA – EMN et le Centre de Recherche sur la Propreté et l'Energie (CRPE) du groupe Veolia Environnement. Bonnevie-Perrier (2008) a mis en évidence le risque de prolifération des microorganismes collectés dans les filtres des CTA et les conséquences sur le vieillissement des filtres et sur la qualité de l'air traité. Il proposait d'étudier plus précisément, l'influence de la quantité et le type de particules accumulées sur les filtres, la température et l'humidité de l'air, ainsi que les paramètres de filtration.

Ces travaux de thèse cherchent ainsi à atteindre 2 objectifs, dans des conditions contrôlées en laboratoire puis en conditions mesurées mais non maîtrisées sur sites réels :

- Etudier les performances des filtres vis-à-vis des particules et des aérosols microbiens, en termes de perte de charge et d'efficacité des filtres, à différents degrés de colmatage,
- Evaluer l'influence des arrêts de ventilation sur le comportement de microorganismes sur les filtres et le relargage des particules et des aérosols microbiens, ceci pour différentes configurations de filtres.

Le premier chapitre synthétise des éléments bibliographiques sur les aérosols atmosphériques, les effets de la pollution de l'air sur la santé, ainsi que sur les techniques de génération, prélèvement et quantification d'aérosols. De même, les principes de la théorie de la filtration sont rappelés et des études sur la présence de microorganismes sur les filtres sont évoquées.

Le deuxième chapitre est une description des matériels, notamment les médias filtrants et les aérosols étudiés, et des méthodes utilisés dans les étapes expérimentales à l'échelle du laboratoire et à pleine échelle.

Le troisième chapitre présente l'étape expérimentale à l'échelle du laboratoire de ce projet qui a consisté, dans un premier temps, à développer un banc de filtration, nommé **mini CTA**. Deuxièmement, l'étude du colmatage de filtres avec des aérosols dits « modèles », afin de constituer un gâteau de particules sur le filtre ayant une fraction organique, inorganique et microbienne, a été réalisée dans des conditions contrôlées et maîtrisées. Les performances des filtres et le comportement des microorganismes sur ceux-ci ont été étudiés.

Le quatrième chapitre est dédié à un suivi réalisé sur 2 CTA réelles et à l'étude des performances des filtres colmatés avec un aérosol atmosphérique urbain. La concentration de microorganismes collectés sur les filtres a été également suivie.

Ce manuscrit se termine avec les perspectives sur la poursuite de l'étude des aérosols microbiens, leur rôle dans les systèmes de ventilation et leur impact sur la santé.

Chapitre 1. Etude bibliographique

I. Introduction

Ce premier chapitre a plusieurs objectifs. Dans un premier temps, établir un état de l'art des études antérieures traitant de la qualité de l'air extérieur et intérieur, concernant notamment les particules et les aérosols microbiens, ainsi que leur impact sur la santé. Deuxièmement, les techniques de génération, d'échantillonnage et de caractérisation des aérosols sont présentées afin de constituer le support technique pour mener à bien les parties expérimentales de ces travaux. Ensuite, une description des systèmes de ventilation et du traitement de l'air, ainsi que de la théorie de la filtration sur des médias filtrants fibreux est exposée. Enfin, les études antérieures sur le comportement des aérosols microbiens sur les filtres des CTA seront évoquées afin d'identifier les paramètres influents.

II. Les particules dans l'air et les aérosols microbiens.

II.1. Définition et formation des aérosols

Un aérosol peut être défini comme une particule liquide ou solide en suspension dans l'air ou dans un milieu gazeux, ou bien déposée sur une surface et susceptible d'être mise en suspension dans des conditions normales de température, humidité et pression (Le Coq, 2006). Les aérosols sont de composition chimique, de forme et de taille variées, dont les diamètres s'échelonnent de **0,005 μm** à **100 μm** ; ils ont aussi une vitesse limite de chute négligeable (Renoux & Boulaud, 1998). Les aérosols regroupent, entre autres, les poussières, les suies et fumées, les brumes et brouillards, les gouttelettes et les particules ayant un contenu biologique. Ils ont un rôle dans la physicochimie de l'atmosphère, spécialement dans la formation des nuages et des précipitations et ils sont également impliqués dans le trou dans la couche d'ozone stratosphérique et le réchauffement climatique.

Les aérosols ont deux origines : *naturelle*, par exemple les sols et débris de roches, le sel marin, les débris d'éruptions volcaniques, les pollens, etc. ; ou *anthropogène*, par exemple les fumées des industries et les particules émises par les processus de combustion. En moyenne sur la planète, la contribution naturelle est bien supérieure à l'apport industriel et humain (Renoux & Boulaud, 1998). Cependant, en zone urbaine ou industrielle, les aérosols anthropiques sont majoritaires. Par rapport au mécanisme de formation, les aérosols peuvent être *primaires* ou *secondaires*. Les aérosols primaires proviennent de processus de fragmentation ou combustion tandis que les aérosols

secondaires sont formés par des réactions de conversion gaz-particules (Agranovski, 2010). Les aérosols peuvent être caractérisés par leur **forme**, leur **taille** et leur **composition chimique**.

II.1.1. Classification des aérosols

La **forme** des particules est idéalement considérée comme une sphère pour des raisons de simplicité dans les modèles mathématiques cherchant à expliquer leur comportement, mais en réalité les aérosols ont des formes irrégulières (Agranovski, 2010). Pour ramener tout aérosol à une particule sphérique, il existe des facteurs de forme géométriques ou dynamiques dans la littérature qui sont spécifiques pour les différents types d'aérosols. Il existe aussi **l'indice de sphéricité**, défini comme le rapport entre la surface d'une sphère et la surface d'une particule de même volume : égal à 1 pour une sphère et inférieur pour les autres formes (Renoux & Boulaud, 1998).

Pour comprendre la classification des aérosols par rapport à leur **taille**, il est nécessaire d'introduire la définition du diamètre d'une particule sachant qu'il y a plusieurs façons de l'exprimer.

- Le diamètre géométrique : lié notamment à la morphologie de particules, il peut être accessible par microscopie électronique,
- Le diamètre du volume équivalent d_{ev} : correspondant au diamètre d'une sphère ayant le même volume et la même masse volumique que la particule,
- Le diamètre optique d_{opt} : correspondant à l'information que les compteurs optiques donnent, lié à l'indice de réfraction des aérosols,
- Le diamètre électrique : lié à la mobilité électrique des particules et mesuré par des analyseurs électriques,
- Le diamètre de Stokes d_{St} , correspondant au diamètre d'une sphère ayant la même vitesse de sédimentation et la même masse spécifique que la particule.

Dans le domaine de la filtration, le **diamètre aérodynamique** d_{ae} est le paramètre le plus souvent utilisé pour exprimer la dimension caractéristique d'une particule. Celui-ci est défini comme le diamètre d'une sphère ayant la même vitesse de chute en air calme que la particule et une masse spécifique égale à 1000 kg/m^3 dans les mêmes conditions d'humidité relative, température et pression (Renoux & Boulaud, 1998). L'équation suivante permet de le calculer :

$$d_{ae} = \sqrt{\frac{(\rho_p - \rho_f)}{(1000 - \rho_f)}} \cdot d_p^2 \approx \sqrt{\frac{\rho_p}{1000}} d_p \quad \text{Eq. 1-1}$$

ρ_p (kg/m³): masse volumique de la particule

ρ_f (kg/m³): masse spécifique du fluide porteur, qui est considérée négligeable par rapport à la masse volumique de la particule dans le cas de l'air

d_p (μm) : diamètre de la particule

Par rapport à la **taille**, il existe une classification basée sur le diamètre aérodynamique. Les *grosses* particules sont celles de diamètre aérodynamique supérieur à 2,5 μm et sont essentiellement produites par des moyens mécaniques comme les vents de sable (Renoux & Boulaud, 1998). Dans le domaine de la surveillance de la qualité l'air, la communauté scientifique a adopté des fractions de taille qui ont été retenues comme spécification cible pour les échantillonneurs. Les PM10, c'est-à-dire les particules de diamètre aérodynamique inférieur à 10 μm, sont considérées comme une mesure standard de la qualité de l'air et elles ont une importance sanitaire car elles peuvent pénétrer le système respiratoire supérieur (Le Coq, 2006). Les particules *fin*es sont celles qui ont un diamètre aérodynamique inférieur à 2,5 μm (PM2,5), elles peuvent pénétrer les alvéoles pulmonaires et elles proviennent majoritairement des transformations gaz-particules (Le Coq, 2006; Renoux & Boulaud, 1998). Différents types de particules classés en fonction de leur diamètre sont présentés dans la **Figure 1-1**. Il est possible de distinguer que les bactéries et les virus, qui peuvent avoir un impact sur la santé humaine, présentent des diamètres compris entre 3 nm et 30 μm.

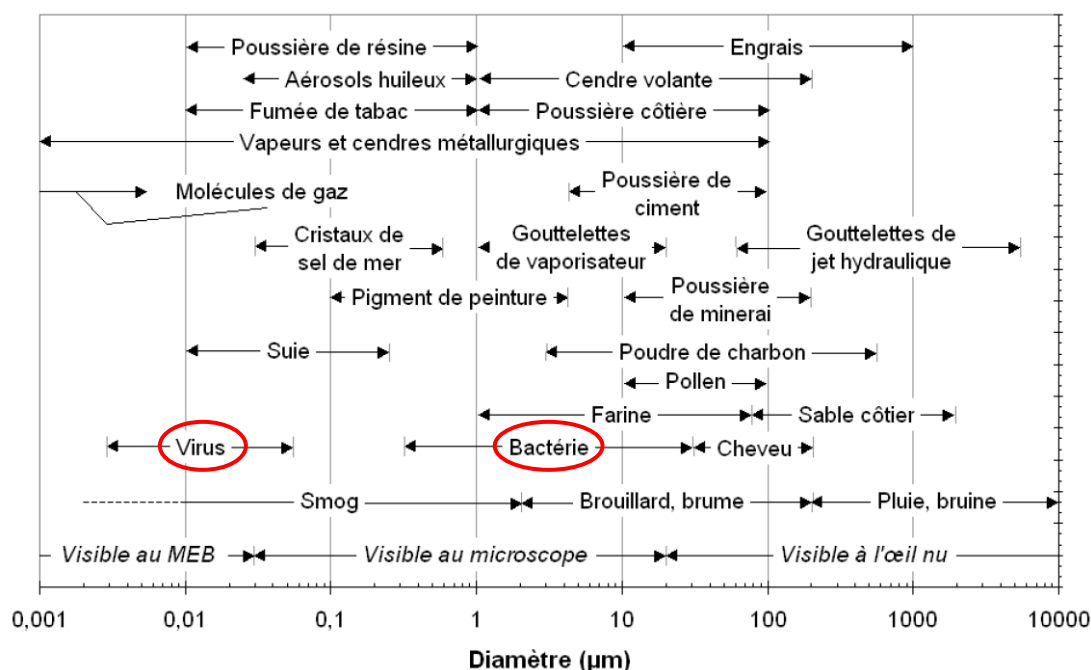


Figure 1-1. Diamètre de quelques particules atmosphériques. Adaptée de (Rault, 1991) et (Dickenson, 1997).

Les aérosols sont souvent polydispersés, c'est-à-dire composés de particules de différents diamètres faisant une distribution granulométrique monomodale ou polymodale. Un traitement statistique est souvent réalisé pour trouver la distribution granulométrique ainsi que d'autres paramètres caractéristiques tels que le diamètre moyen, la valeur médiane, l'étendue de la granulométrie, la valeur modale et l'écart type (**c.f. Tableau 1-1**).

Dans la **Figure 1-2**, deux types de distribution granulométrique sont présentés ainsi que leur équation caractéristique : la distribution normale ou gaussienne et la distribution lognormale. La distribution gaussienne est une courbe symétrique peu commune où 68,3% des particules ont des dimensions comprises entre $\bar{d}_p - \sigma$ et $\bar{d}_p + \sigma$. Par contre, la distribution lognormale est la plus souvent rencontrée dans le domaine des aérosols atmosphériques, où 68,2% des particules ont des dimensions comprises entre \bar{d}_g / σ_g et $\bar{d}_g \times \sigma_g$ (Rhodes, 1998).

Tableau 1-1. Paramètres caractéristiques des distributions granulométriques (Renoux & Boulaud, 1998)

Paramètre caractéristique	Equation/Définition
La moyenne arithmétique ou le diamètre moyen arithmétique	$\bar{d}_p = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^n d_i$; $N = \sum_{i=1}^n N_i$; $\bar{d}_p = \frac{\sum_{i=1}^n N_i d_i}{N}$ (pondéré)
La moyenne géométrique ou le diamètre moyen géométrique	$\bar{d}_g = \sqrt[n]{\prod_{i=1}^n d_i}$
La variance (ou fluctuation)	$\sigma^2 = \frac{\sum N_i (d_i - \bar{d}_i)^2}{\sum N_i}$
L'écart type ou déviation standard	σ
La médiane	Valeur de diamètre autour de laquelle se partagent les observations par moitié.
Le mode	Valeur de diamètre pour laquelle il y a le plus grand nombre d'observations.
L'étendue	Différence entre la plus faible et la plus forte des valeurs observées.

Avec d_p le diamètre de particule, N_i le nombre de particules dans l'intervalle i et d_i le diamètre correspondant à l'intervalle i .

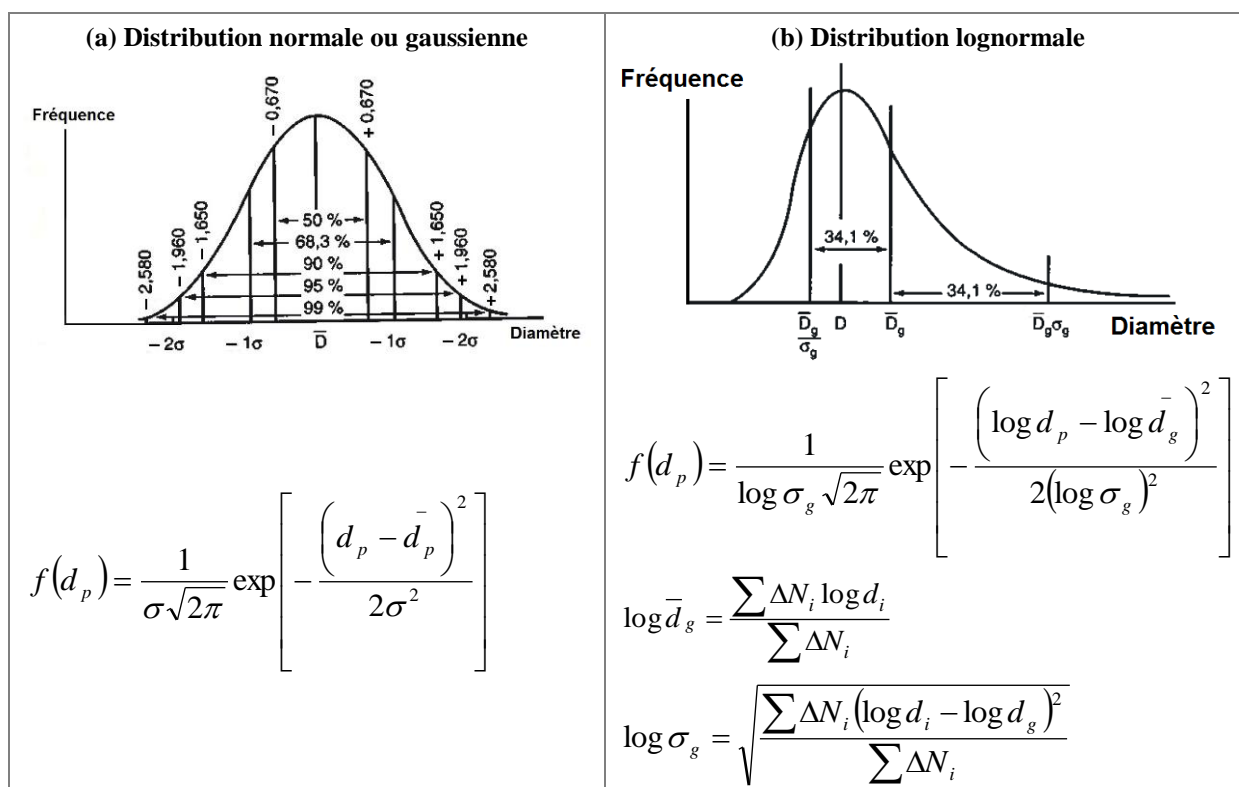


Figure 1-2. Distribution granulométrique de type normale et lognormale et leur équation caractéristique (Renoux & Boulaud, 1998)

Concernant la **composition chimique**, celle-ci dépend de l'origine et des processus de transformation que les particules subissent. Il y a des particules *organiques*, constituées de composés organiques volatils (COV) et d'hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP). Les particules *inorganiques* sont constituées de sulfates (SO_4^{2-}), de nitrites (NO^3), de sels d'ammoniaque (NH_3), de matières minérales (Si, Al, Ca, Fe,...), de métaux lourds, de fibres de verre, etc. (Le Coq, 2006; Renoux & Boulaud, 1998). Une description plus détaillée sera présentée plus loin dans ce chapitre spécifiquement pour les aérosols urbains (section III.1, Aérosols atmosphériques urbains).

Les aérosols peuvent également être biologiques et ils se dénomment **bioaérosols**. Les bioaérosols sont définis comme des particules d'origine microbienne, animale ou végétale en suspension dans l'air (Duquenne & Greff-Mirguet, 2005). Les particules biologiques peuvent être à l'origine d'effets sur la santé, mais elles ont aussi un rôle dans la physicochimie des nuages puisque certains microorganismes peuvent être capables d'accumuler de l'eau et jouer le rôle de noyau de condensation (Matthias-Maser & Jaenicke, 1995). Les bioaérosols possèdent souvent une teneur importante en phosphore (P) et les bactéries contiennent une forte teneur en sodium (Na) (Casareto *et al.*, 1996). Parmi les bioaérosols, il est possible de trouver des *fragments biologiques*, tels que le pollen, les fragments d'insectes, les enzymes, les cellules de peau, les allergènes et plus rarement

les micro-algues, les protozoaires ou les helminthes, ainsi que *des aérosols microbiens* tels que les virus, les levures, les moisissures, les bactéries et les spores, viables ou non et cultivables ou non (Wittmaack *et al.*, 2005). Cette classification est présentée dans la **Figure 1-3**.

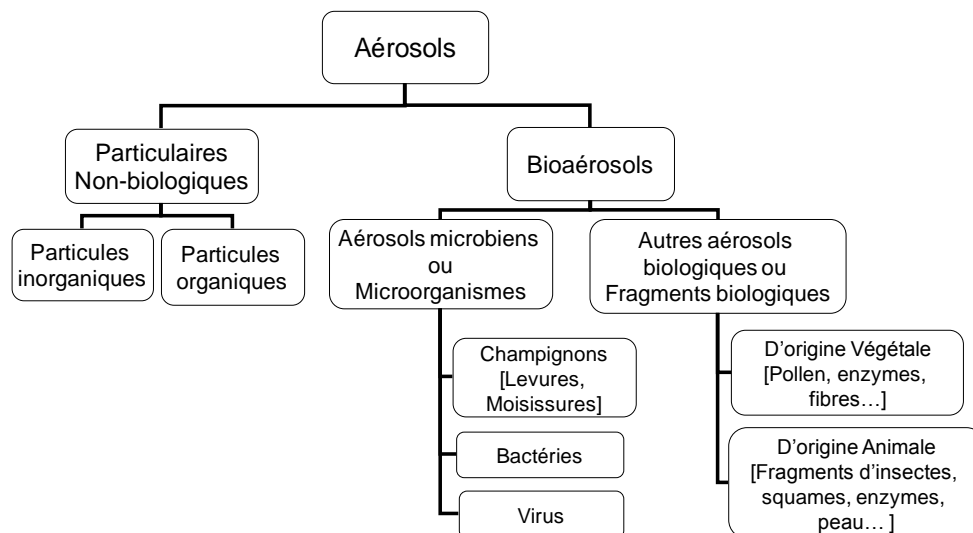


Figure 1-3. Classification des aérosols

II.1.2. Les particularités des bioaérosols

Les bioaérosols sont des composants omniprésents parmi les aérosols atmosphériques. Des microorganismes, par exemple, ont été détectés dans la phase aqueuse de l'atmosphère, comme les nuages et le brouillard. Leur rôle dans la chimie de l'atmosphère est actuellement un sujet d'étude (Amato *et al.*, 2005 ; Bauer *et al.*, 2008 ; Delort *et al.*, 2010). En général, les bioaérosols sont présents dans l'air sous forme :

- d'éléments biologiques individualisés (spores, cellules bactériennes, virus isolés),
- d'agrégats ou d'assemblages constitués de plusieurs éléments biologiques,
- de produits ou de fragments d'éléments biologiques individualisés,
- de particules d'origine biologique associées à des particules d'origine non biologique.

En effet, dans l'air les cellules bactériennes sont rarement isolées puisqu'elles ont tendance à s'associer avec les particules présentes dans l'air. Ces particules peuvent offrir une protection contre la lumière et la dessiccation aux bactéries qui ainsi survivent mieux sur des longues distances (Lighthart et Kim, 1989).

Les particules biologiques de dimension supérieure à 2 μm proviennent principalement des plantes qui libèrent les spores et le pollen dans l'atmosphère. Les particules de taille inférieure à 2 μm sont souvent produites par des activités industrielles ou agricoles (Matthias-Maser *et al.*, 1995). Le **Tableau 1-2** présente les tailles associées à différents types de bioaérosols.

Tableau 1-2. Type de bioaérosols en fonction de leur taille (diamètre aérodynamique)

Type de bioaérosols	d _{ae} (µm)	Références
Virus	0,01 - 0,5	(Matthias-Maser & Jaenicke, 1995)
Bactéries	0,3 - 10 ~1 0,25 – 8 2 - 4	(Wittmaack <i>et al.</i> , 2005) (Burrows <i>et al.</i> , 2009 ; Hoose <i>et al.</i> , 2010) D'après (Jones & Harrison, 2004) (Wang <i>et al.</i> , 2010)
Spores fongiques	1 - 100 1 – 30 ~4	(Wittmaack <i>et al.</i> , 2005) (Jones & Harrison, 2004) (Sesartic <i>et al.</i> , 2011)
Débris de plantes, fragments d'insectes, cellules humaines et animales	1 - 100	(Matthias-Maser & Jaenicke, 1995 ; Wittmaack <i>et al.</i> , 2005)
Grains de pollen	10 - 100 17 - 58	(Matthias-Maser & Jaenicke, 1995) (Jones & Harrison, 2004)

En général, les microorganismes peuvent être regroupés en différentes catégories :

- Des **organismes viables** (ou microorganismes vivants), c'est-à-dire ceux qui réalisent un métabolisme et en conséquence une reproduction, dont :
 - **Viables cultivables**, c'est-à-dire les microorganismes ayant la capacité de se multiplier quand les conditions (température, humidité, source d'énergie et de nutriments) sont favorables, jusqu'à la formation d'une colonie de taille visible, et
 - **Viables non cultivables**, c'est-à-dire, les microorganismes qui ont réduit leur activité métabolique, donc leur capacité de se diviser et de former une colonie est temporairement bloquée, mais ils conservent les fonctions vitales,
- Des **organismes non viables** (ou microorganismes morts), c'est-à-dire ceux qui ne réalisent pas un métabolisme, sous entendant la non viabilité (mortalité) comme un état irréversible.

II.1.2.1. Généralités sur les bactéries

II.1.2.1.a. Classification

Les bactéries sont des organismes unicellulaires **procaryotes** qui ont une membrane cellulaire mais n'ont ni noyau ni organite (c.f. **Figure 1-4.a**). Les formes les plus communes sont : les coques (à peu près sphériques), les bacilles (sous forme de bâtonnets) et les formes intermédiaires (coccobacilles, hélicoïdales). Néanmoins, il existe d'autres formes (c.f. **Figure 1-4.b**). Elles peuvent exister en tant que cellules individuelles mais sont aussi associées en arrangements caractéristiques qui sont souvent utiles pour leur identification. Les « biofilms » sont des communautés multicellulaires composées d'arrangements complexes de cellules et de composants extracellulaires (Prescott *et al.*, 1995).

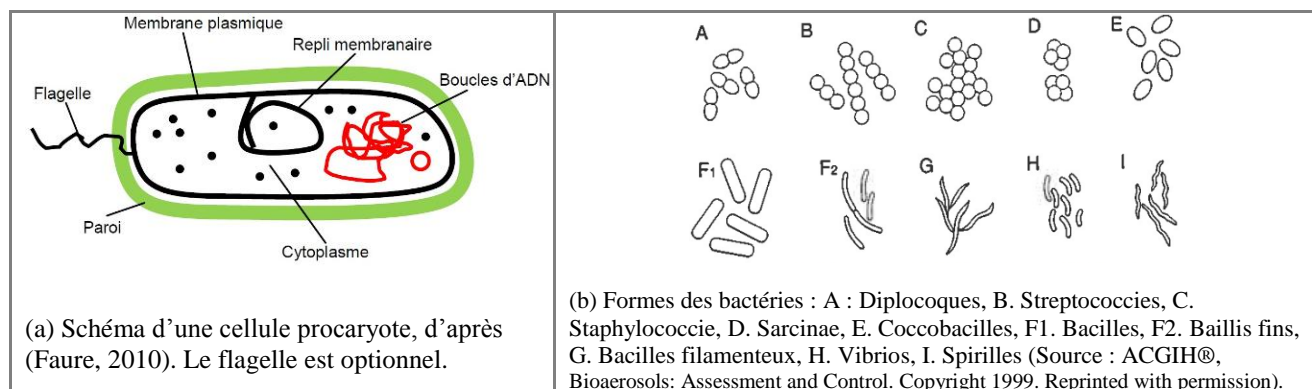


Figure 1-4. Schéma d'une cellule procaryote et formes des bactéries.

Concernant leur paroi cellulaire, il existe deux types principaux de bactéries : les *Gram-positives* et les *Gram-négatives*. Les bactéries Gram-positives disposent d'une paroi épaisse et homogène constituée principalement de peptidoglycane et acides teichoïques (polymères de glycérol reliés par des groupes phosphates). Les espèces *Clostridium*, *Bacillus* et *Micrococcus* sont des exemples des bactéries Gram-positives. Par contre, les bactéries Gram-négatives ont une couche fine de peptidoglycane localisée entre la membrane plasmique et la membrane externe comme par exemple l'espèce *Pseudomonas*.

II.1.2.1.b. Sources d'énergie et croissance

Les bactéries autotrophes sont capables d'utiliser diverses sources de carbone, qui vont des substrats inorganiques aux composés organiques complexes. Celles qui sont hétérotrophes peuvent métaboliser des composés carbonés en présence ou en absence d'oxygène, elles sont dites aérobies ou anaérobies respectivement. Certaines bactéries peuvent aussi bien se développer en présence ou absence d'oxygène et elles sont nommées aérobies facultatives (ACGIH, 1999).

Dans le groupe des bactéries Gram-positives, se trouvent les bactéries thermophiles, dont la croissance est favorisée par des températures comprises entre 50 et 55 °C. Il existe aussi les bactéries mésophiles qui poussent entre 18 et 44 °C et les bactéries psychrophiles qui se développent entre 0 et 10 °C.

II.1.2.1.c. Reproduction

La reproduction des bactéries se fait par duplication d'une cellule mère en deux cellules filles identiques. Certaines bactéries Gram-positives sont capables de former des structures spéciales et dormantes appelées *endospores* lorsqu'elles rencontrent des conditions défavorables ou de stress, lesquelles peuvent former de nouvelles bactéries quand les conditions s'améliorent. Les genres *Bacillus* et *Clostridium* ont cette capacité de former des endospores à l'intérieur des cellules. Ces

structures sont extrêmement résistantes à la chaleur, aux radiations ultraviolettes, aux désinfectants chimiques et à la dessiccation.

Elles ont aussi la capacité de survivre au manque d'eau et d'éléments nutritifs, notamment les sucres et les acides aminés. La **sporulation** est un phénomène complexe qui commence au moment où la cellule végétative n'a plus de nutriments et en conséquence la croissance cellulaire s'arrête. Souvent, les spores ne se forment pas dans un milieu riche sauf s'il y a une *activation* qui prépare les spores pour la germination. La *germination* peut démarrer grâce à la présence de métabolites ou nutriments et donc la croissance bactérienne recommence (Prescott *et al.*, 1995).

II.1.2.1.d. Toxines

Les bactéries produisent aussi des exotoxines et des endotoxines. Les *exotoxines* sont des protéines produites à l'intérieur de la cellule et qui sont sécrétées dans leur environnement. Elles n'ont pas été trouvées dans l'air. Les *endotoxines* sont des lipopolysaccharides qui font partie de la paroi cellulaire des bactéries Gram-négatives, et qui sont libérées lorsque celle-ci se lyse. Les endotoxines sont également libérées pendant la multiplication bactérienne et peuvent être à l'origine d'effet sur la santé (Prescott *et al.*, 1995). Enfin, il existe un type de bactéries particulier appelées actinomycètes, qui sont des bactéries Gram-positives mais qui forment des hyphes filamenteux et produisent des spores asexuées ; elles ressemblent fortement aux moisissures en termes de mécanisme de reproduction.

II.1.2.2. Généralités sur les « Fungi »

II.1.2.2.a. Classification

Le règne des « Fungi » comprend les espèces fongiques ou mycètes (appelés communément champignons) qui sont des **eucaryotes** non chlorophylliens. Les cellules eucaryotes ont une organisation cellulaire plus évoluée et plus complexe par rapport à celle des cellules procaryotes (c.f. **Figure 1-5a**).

Selon leur morphologie, les « fungi » peuvent être classés en 3 types : les levures, les moisissures et les champignons dimorphes. Les **levures** sont des mycètes qui sont unicellulaires, au moins dans le milieu de culture, et qui ne forment pas de mycélium (c.f. section II.1.2.2.b: Sources d'énergie et croissance). Les **moisissures** sont une communauté qui se développe de manière filamenteuse en formant des mycéliums et qui sont visibles notamment sur les structures des bâtiments, les rebords des fenêtres et sur les murs des ambiances humides. Les **dimorphes** sont des mycètes qui ont les deux caractéristiques.

II.1.2.2.b. Sources d'énergie et croissance

Les espèces fongiques sont hétérotrophes (chimio-organotrophes), c'est-à-dire qu'elles utilisent la matière organique comme source de carbone, d'énergie et d'électrons et elles peuvent même produire des *exo-enzymes* hydrolytiques pour digérer les substrats et absorber les nutriments solubles à travers leurs paroi et membrane cellulaire. En général, les espèces fongiques multicellulaires se développent en formant des filaments appelés **hyphes** qui se ramifient jusqu'à la formation d'une masse emmêlée nommée **mycélium**. Dans la **Figure 1-5b**, une colonie d'un mycète est présentée sur une gélose nutritive laquelle représente la croissance fongique par la formation de mycélium aérien (au-dessus du substrat) et de mycélium végétatif (à l'intérieur du milieu). Un hyphe est un tube avec une paroi rigide contenant du protoplasme³ d'une longueur très variable mais avec un diamètre entre 2 μm et 30 μm . L'hyphe ne se développe que par son extrémité.

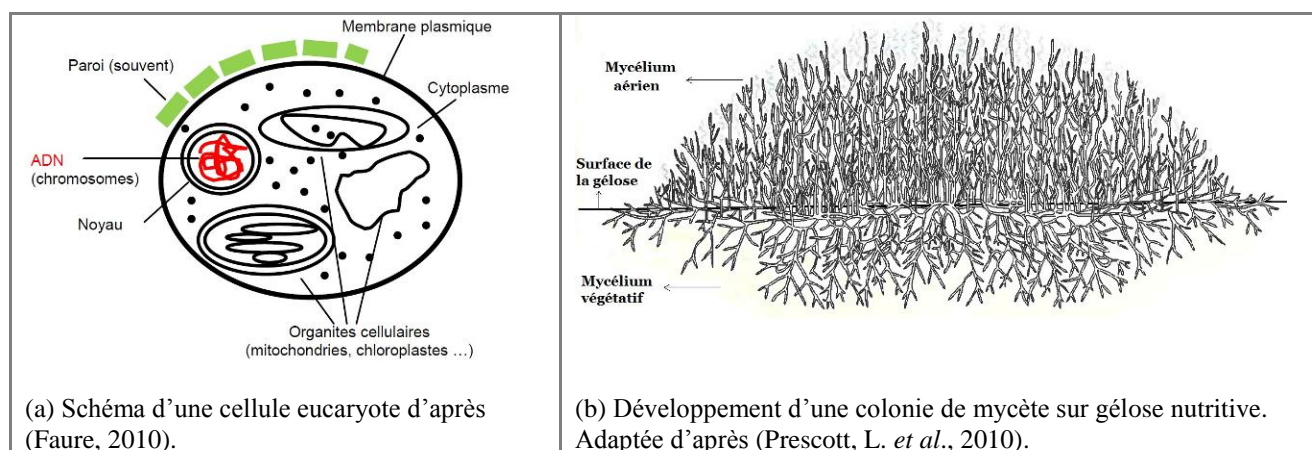


Figure 1-5. Schéma d'une cellule eucaryote et procaryote

II.1.2.2.c. Reproduction

La reproduction des espèces fongiques est un phénomène complexe et peut être *asexuée* (sous forme de spores) ou *sexuée* (par le développement de la cellule en un organisme pluricellulaire). La formation *asexuée* des spores a pour objectif **la dispersion** et peut être réalisée de plusieurs manières dont les plus importantes sont les *sporangies* ou les *conidies*. Les *sporangies* sont des structures contenant des spores formées par la segmentation du protoplasme tandis que les *conidies* contiennent les spores, mais ils se forment directement à partir des hyphes (c.f. **Figure 1-6**). Il a été démontré que pour *Aspergillus niger* les conidiospores sont produites sous conditions limitées d'azote mais dans un milieu riche en carbone (Deacon, 2006). Les genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Cladosporium* présentent ce type de reproduction.

³ Le protoplasme comprend le cytoplasme et le noyau d'une cellule vivante.

La reproduction *sexuée* implique trois phases : la fusion de deux cellules haploïdes⁴, la fusion nucléaire pour former une cellule diploïde et la division cellulaire par méiose⁵. Il peut aussi avoir formation de spores sexuées qui sont produites sous conditions de croissance défavorables comme les spores dormantes qui ont un important rôle pour **la survie** des espèces.

II.1.2.2.d. Toxines et métabolites

La paroi cellulaire des « fungi » contient souvent de la chitine⁶ et des glucanes⁷, notamment les liaisons β -1,3 et β -1,6. Ils produisent aussi des métabolites *primaires* et *secondaires*. Les premiers sont des produits essentiels pour les fonctions fongiques et sont les produits intermédiaires ou finaux de la voie métabolique, tels que les sucres, les aminoacides, le glycérol, les acides organiques, etc. Les métabolites *secondaires* ne sont pas essentiels pour la croissance et sont des composés assez divers formés par des organismes particuliers, comme par exemple les antibiotiques et les toxines fongiques ou mycotoxines (Deacon, 2006). Ces toxines peuvent être à l'origine de mycoses (maladies parasitaires) et de réactions allergiques (fièvre, rhinites, asthme ou pneumonie) chez les humains.

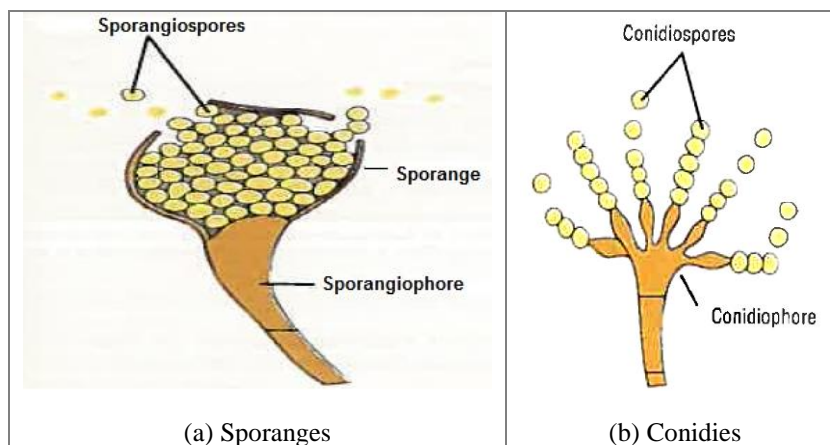


Figure 1-6. Exemple des structures contenant des spores par reproduction asexuée des espèces fongiques (Prescott L. et al., 1995).

II.1.2.2.e. Dispersion dans l'air

La dispersion des spores peut avoir lieu dans l'eau, dans l'air et grâce à quelques insectes qui peuvent disperser une grande quantité de spores fongiques. Quelques mécanismes de libération de spores fongiques à travers une couche limite dans l'air sont montrés dans la **Figure 1-7**. Les spores peuvent être aéroportées et dispersées par l'éclaboussure d'eau de pluie (c.f. **Figure 1-7a**), ou le

4 Cellules avec un seul exemplaire de chromosomes qui sont les structures contenant l'information génétique.

5 La méiose est le cycle de production de cellules sexuelles qui assure une variation génétique pour le mélange d'information génétique des deux cellules parentales.

6 La chitine est un sucre aminé ($C_8H_{13}NO_5$)_n, constituant de l'exosquelette des insectes et autres arthropodes. Chez les champignons, la chitine donne la rigidité à la paroi fongique.

7 Les glucanes sont des polysaccharides constitués de monomères de glucose. Les glucanes, reliés par des liaisons bêta (β), sont souvent trouvés dans les parois des champignons, dans la cellulose des plantes, le son des céréales, etc.

vent (c.f. **Figure 1-7b** et **7c**), en contribuant aux bioaérosols trouvés dans l'air. Tucker *et. al.* (2007) ont observé la dispersion de conidies de *Stachybotrys chartarum* sous un flux d'air à faible vitesse (1.6 m/s) pendant une heure d'essai. Ils ont remarqué que 0,1 à 0,2% des spores produites ont été aérosolisées, dont 89% pendant les 5 premières minutes d'exposition à l'air (**Figure 1-8a**). Ils ont ensuite comparé le relargage avec d'autres souches comme *Aspergillus niger*, *Penicillium spp* et *Cladosporium cladosporioides* pour lesquelles ils ont trouvé un relargage de 1-20%, pendant les 60 min de l'essai (**Figure 1-8b**). Ils ont conclu que cette vitesse, qui correspond à une force d'entraînement de l'ordre des nano Newtons (nN), paraît faible puisque la force nécessaire de l'entraînement des spores est relativement élevée, 1000 fois supérieure, de l'ordre des micro Newtons (μN).

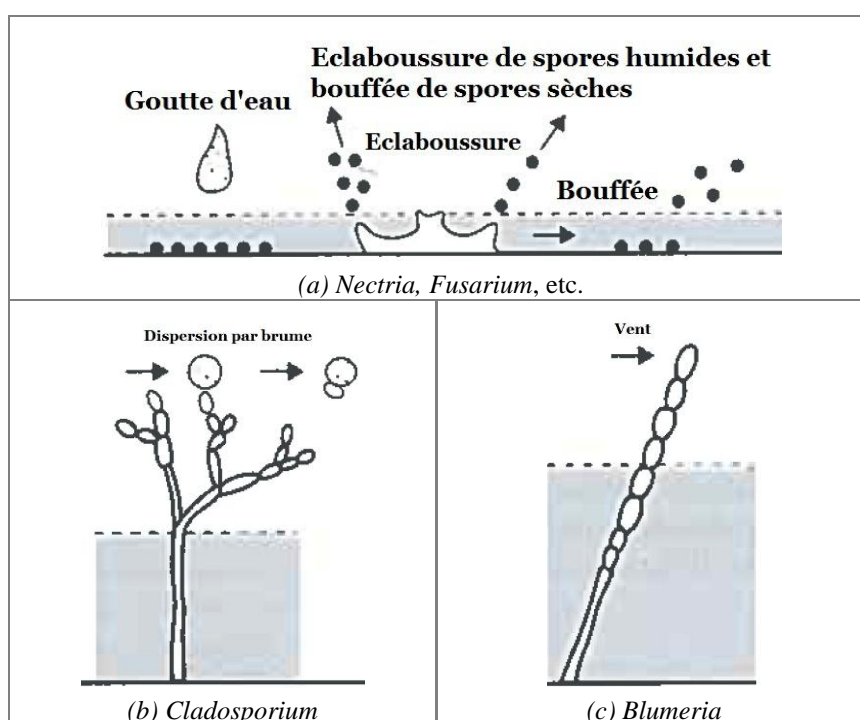


Figure 1-7. Exemples de mécanismes de dispersion de spores fongiques à travers une couche limite. Adaptée de (Deacon, 2006).

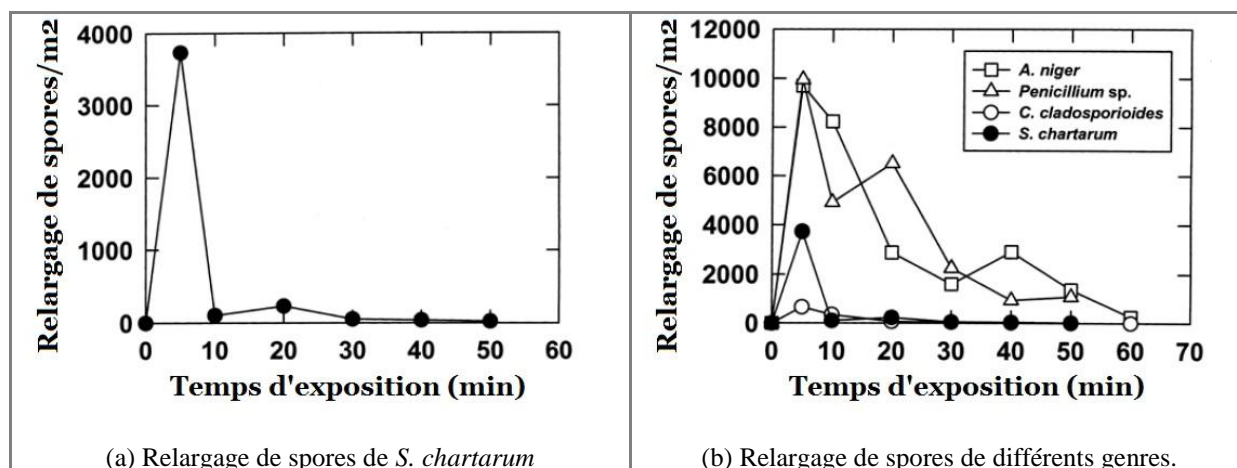


Figure 1-8. Relargage de spores soumises à un flux d'air tangentiel (1,6 m/s) en développement sur des panneaux muraux en gypse (Tucker *et al.*, 2007).

II.1.2.3. Croissance microbienne

En général, la croissance microbienne, définie comme l'augmentation du nombre de cellules, c'est-à-dire la biomasse, dans un système non renouvelé, est caractérisée par 7 phases successives qui peuvent être représentées graphiquement (c.f. **Figure 1-9**) : 1) une phase de latence (avec un temps de latence *lag*), qui commence quand une concentration de microorganismes x_0 est introduite dans un milieu de culture neuf, 2) une phase d'accélération de croissance, 3) une phase de croissance exponentielle à vitesse maximale constante μ_{max} , 4) une phase de diminution de la vitesse de croissance, 5) une phase d'arrêt de la croissance ou phase stationnaire, 6) une phase de début de la décroissance et finalement 7) une phase de décroissance ou autolyses.

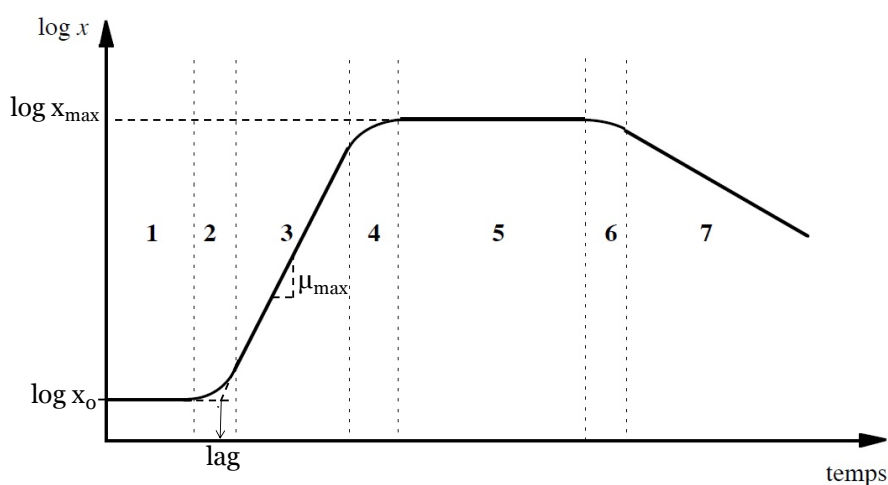


Figure 1-9. Allure de la courbe de croissance microbienne, x . Adaptée de (Buchanan, 1918 et Augustin, 2005).

Dans cette première partie, des généralités sur les aérosols et notamment sur les aérosols microbiens ont été décrites. Pour comprendre les particularités de ces derniers, il nous a paru important de rappeler quelques aspects microbiologiques pour comprendre leur capacité de se disperser, se développer et éventuellement coloniser une surface en tant que particules aéroportées de caractère vivant. Il est intéressant de remarquer les différences entre les mécanismes de reproduction des bactéries et des espèces fongiques, car d'après la littérature, ce sont les espèces fongiques qui ont plus de « mobilité » pour la recherche de nutriments grâce aux ramifications qu'ils forment. Nous considérons que cette caractéristique va être déterminante lors de l'analyse de la croissance microbienne sur les filtres des réseaux de ventilation.

III. Les aérosols et la qualité de l'air

III.1. Aérosols atmosphériques urbains

Les concentrations de particules varient significativement dans le temps (variations jour/nuit), par rapport à l'endroit d'analyse (zone influencée par le trafic routier, zone résidentielle) et aux conditions climatiques (saisons, périodes de pluie, etc.). Pour avoir des ordres de grandeur, rappelons les valeurs standards de qualité de l'air. L'Union Européenne (UE) a établi des valeurs limites pour les PM₁₀ : la valeur moyenne annuelle limite est 40 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, tandis que la valeur moyenne limite sur 24 heures est 50 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ pour 2005. Pour les PM_{2,5}, la valeur moyenne annuelle limite fixée par l'UE est 25 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ pour 2010. Plusieurs publications ont rassemblé les résultats de différentes campagnes d'échantillonnage pour mesurer les niveaux des particules.

Par exemple, les concentrations moyennes annuelles de PM₁₀ dans de zones urbaines en Amérique du Nord et en Europe occidentale, ont été reportées entre 30 et 60 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (Cohen *et al.*, 2004). Putaud *et.al.* (2010) ont remarqué que, dans les zones urbaines, les concentrations annuelles des PM₁₀ dans le sud-est de l'Europe sont significativement supérieures (médiane = 36 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) par rapport à celles du nord-ouest et Europe centrale (médianes = 24-26 $\mu\text{g}/\text{m}^3$). Carlsson et Johnsson (2012) présentent des concentrations de PM_{2,5} entre 11 et 21 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ pour quelques villes européennes (London, Paris, Berlin, Zurich et Copenhague).

Concernant la granulométrie de l'aérosol urbain, une distribution bimodale en nombre est souvent rencontrée : un premier pic entre 1 et 2 μm est attribué aux émissions anthropiques tandis que le deuxième pic, souvent entre 8 et 15 μm est la conséquence des émissions naturelles. En masse, la valeur modale peut être trouvée entre 5 et 20 μm . Dans les zones urbaines, les particules entre 2,5 et 10 μm prédominent par rapport aux PM_{2,5}. Il est connu aussi que les zones urbaines présentent des concentrations de PM₁₀ plus élevées par rapport aux zones rurales (Monn, 2001).

Concernant la composition chimique, d'après la revue de Calvo *et al.* (2013), les principaux composés qui constituent les aérosols urbains sont les espèces sulfurées, azotées et carbonées. Cette composition chimique dépend de la nature des sources. La plupart des aérosols sulfurés sont de sulfates secondaires produits par l'oxydation de gazes précurseurs, comme le SO₂ et le diméthyle sulfure, suivi d'un processus de formation de particules par nucléation ou condensation. Les aérosols azotés sont également d'origine secondaire comme résultats de réactions de précurseurs

naturels et anthropiques. Les principaux gaz précurseurs sont le NO, NO₂, N₂O, NH₃ et l'acide nitrique. Ces aérosols ont généralement un diamètre inférieur à 2,5 µm (Putaud *et al.*, 2010 ; Squizzato *et al.*, 2013) . Les aérosols carbonés correspondent à une fraction importante des aérosols atmosphériques et ils comprennent les carbonates, le carbone élémentaire et le carbone organique. Cette fraction, en masse, peut atteindre jusqu'à 50% de PM_{2,5} et 70% de PM₁ des aérosols urbains. Les processus de combustion comme le trafic routier et les procédés industriels sont les principales sources primaires de particules d'origine anthropique (Li *et al.*, 2012).

Harrison (2004), présente la composition chimique de particules mesurées à Londres, dans des zones urbaines. Il conclut que le trafic routier est la source qui a le plus d'impact au niveau du sol dans des zones urbaines, notamment les véhicules fonctionnant avec des moteurs diesel qui est de loin la source majeure des fumées noires. Dans une autre étude qui porte sur la phénoménologie des aérosols en Europe et qui synthétise différents travaux, il est observé que la matière organique semble être le principal contributeur à la concentration moyenne annuelle en masse des PM_{2,5} et PM₁₀ ; cette conclusion est valable pour les zones urbaines (Putaud *et al.*, 2004). D'autre part, Zhang *et al.*, 2007 ont répertorié les résultats de 37 campagnes de caractérisation chimique des aérosols dans des milieux urbains et ruraux pour différents pays et ils ont trouvé que pour les aérosols submicroniques urbains, la fraction organique est assez variable étant comprise entre 18 et 70% en masse.

Dans les aérosols urbains, il existe aussi des particules d'origine biologique dont les aérosols microbiens qui ont également des concentrations et compositions variables. Dans la section suivante, un récapitulatif de ce type d'aérosols va être exposé.

III.2. Qualité microbiologique de l'air

Depuis le XIXème siècle, la qualité microbiologique de l'air est étudiée, ce qui a permis de découvrir l'énorme variété d'espèces bactériennes et fongiques. Dans ce chapitre, on trouvera un panorama de la concentration des aérosols microbiens dans l'atmosphère et des espèces les plus rencontrées.

III.2.1. Qualité microbiologique de l'air extérieur

Les bioaérosols sont présents dans toutes les couches atmosphériques. La concentration de particules **non** biologiques a été estimée en nombre entre 10² et 10⁵ particules/cm³ et en masse entre

1 et 100 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. La proportion de bioaérosols par rapport à la masse totale d'aérosols atmosphériques a été mesurée par plusieurs auteurs et elle est très variable comme on peut le voir dans le **Tableau 1-3** qui résume quelques études. La fraction *viable* de microorganismes a été quantifiée entre 0,001% et 40% par rapport au nombre total de microorganismes, d'après (Agranovski, 2010).

Tableau 1-3. Proportions moyennes des bioaérosols par rapport aux aérosols atmosphériques.

Ville/Pays	Pourcentage (%)	Remarques	Référence
Balbina, Brésil : Amazonie	70-80 (masse ou volume)	Fraction cellulaire par rapport au nombre de particules $>0,4\mu\text{m}$ de diamètre.	(Graham <i>et al.</i> , 2003)
Balbina, Brésil : Amazonie	25-45 (masse)	Fraction de spores de Basidiomycota et Ascomycota par rapport aux PM10.	(Elbert <i>et al.</i> , 2007)
Toronto, Canada : zones rurales et urbaines	4-11 (masse)	Fraction d'espèces fongiques et pollen par rapport aux PM2,5.	(Womiloju <i>et al.</i> , 2003)
Pittsburg, Etats-Unis : zone urbaine	3-7 (masse)	Fraction de bioaérosols par rapport aux PM2,5.	(Coz <i>et al.</i> , 2010)
Helgoland, Allemagne et la Mer du Nord (3000m d'altitude)	15 (nombre)	Fraction cellulaire par nombre de particules $>0,4\mu\text{m}$ de diamètre.	(Gruber & Jaenicke, 1999)
Mainz, Allemagne : zone rurale/urbaine	30 (nombre) 15 (volume)	Particules biologiques par rapport aux particules totales	(Matthias-Maser & Jaenicke, 1995)
Vienne, Autriche : -Zone suburbaine	3-7 (masse)	Fraction de spores fongiques par rapport à la concentration massique de PM10.	(Bauer <i>et al.</i> , 2008)
-Zone urbaine (trafique prédominant)	1-4 (masse)		
Sibérie : zone continental	0.01-10 (masse)	Fraction de protéines totales mesurées par méthode gravimétrique	Saratov <i>et al.</i> (2003) d'après (Agranovski, 2010).
Sud de Sibérie : zone près du Lac Baïkal	10-80 (masse)	Fraction de bioaérosols.	(Matthias-Maser & Jaenicke, 1994)
	20 (nombre) 30 (volume)	Fraction massique de bioaérosols.	(Matthias-Maser <i>et al.</i> , 2000)
Lac Baïkal, Russie	25 (masse ou nombre)	Fraction de matériel cellulaire et de protéines des aérosols atmosphériques.	(Jaenicke, 2005)

Il est possible de voir que la fraction microbienne des aérosols n'est pas négligeable et est largement variable. Les aérosols microbiens ont été considérés comme indicateurs de la pollution atmosphérique biologique ou bio-pollution, et notamment les spores fongiques ont été étudiées comme indicateurs aussi pour leur aspect allergique chez les humains.

III.2.1.1. Effets climatiques

Jones & Harrison (2004) ont étudié les effets météorologiques sur les bioaérosols atmosphériques. De cette revue, il est possible de ressortir que la concentration de bioaérosols peut être corrélée à plusieurs facteurs comme la température, l'humidité relative (HR), la vitesse du vent, le moment de la journée, les saisons, la radiation solaire et la proximité d'une source, telle que les cultures agricoles et les environnements forestiers. Ainsi, les bioaérosols sont plus activement présents dans les zones où il y a des plantes. De manière générale, pendant l'été, les spores et les fragments d'insectes correspondent à la fraction majoritaire des bioaérosols tandis que les microorganismes (bactéries et moisissures), les insectes et les résidus végétaux sont plus présents en hiver (Jones & Harrison, 2004). La littérature montre aussi que, d'une manière générale, pendant les saisons chaudes il y a plus d'aérosols que pendant les saisons froides (Agranovski, 2010).

Différentes études montrent qu'une fraction importante des bioaérosols est composée par des *spores fongiques*. Plusieurs auteurs ont étudié l'influence des paramètres climatiques sur la présence de spores fongiques et les résultats sont assez variables en fonction du type d'atmosphère étudié, que ce soit une zone tropicale ou urbaine. Au niveau des saisons, la concentration de bioaérosols, notamment des spores fongiques, semble être supérieure en été par rapport à celle trouvée au printemps (Bauer *et al.*, 2008) ou en hiver (Coz *et al.*, 2010). Sautour *et al.* (2009) ont trouvé pendant l'hiver une prédominance des genres *Penicillium* et *Aspergillus*. Au niveau des paramètres climatiques, de manière générale, il ressort de plusieurs études que la concentration de spores fongiques augmente en même temps que la radiation solaire, la température ($>21^{\circ}\text{C}$) et la vitesse du vent (0.5-1m/s) et que l'humidité relative (entre 40 et 70%) et les précipitations diminuent. Par exemple, Liang *et al.* (2013) ont quantifié la concentration de spores fongiques de l'atmosphère dans une zone urbaine de Beijing (Chine) et ils ont étudié l'influence de quelques conditions climatiques. Ils ont observé une corrélation positive de la température et de l'humidité relative, ce qui est cohérent avec les résultats trouvés par Zhang *et al.* (2010) sur l'île tropicale de Hainan (Chine), par Kalyoncu *et al.* (2010) dans une zone urbaine à Manisa *et al.* (Turquie), par Quintero *et al.* (2010) à San Juan (Puerto Rico) et par Hass *et al.* (2013) au centre-ville de Graz (Autriche). Liang *et al.* (2013) ont trouvé également une corrélation négative avec la vitesse du vent et aucune corrélation avec la radiation solaire. D'autre part Rodríguez-Rajo *et al.* (2005) ont montré que les concentrations les plus élevées de spores fongiques se rencontrent sous une humidité relative de 80% et une température entre 23°C et 29°C . Les pics de concentration se trouvent typiquement vers midi, mais certains auteurs observent un comportement bimodal avec un pic le matin et un autre l'après-midi (Jones & Harrison, 2004).

La concentration des **bactéries viables** peut également être corrélée à l'augmentation de la température, à la diminution de l'humidité relative et aux radiations solaires par l'effet des rayons ultraviolets. Les concentrations en bactéries augmentent fortement après un événement pluvieux. Dans les zones urbaines, les concentrations sont supérieures par rapport à celles des zones rurales. Pendant la journée, la concentration d'organismes viables augmente le matin et les conditions extrêmes de radiation solaire à midi diminuent la concentration (Jones & Harrison, 2004). Les cellules végétatives de bactéries Gram-négatives, ne sont généralement pas capables de survivre après aérosolisation et sont souvent affectées par la température et l'humidité relative. Les bactéries Gram-positives sont plus résistantes et elles restent viables malgré le stress dû au transport dans l'air (Stetzenbach, 1998).

III.2.1.2. Concentration d'aérosols microbiens dans l'air extérieur

Dans la littérature, des campagnes d'échantillonnage de l'air extérieur ont été reportées dans lesquelles la concentration d'aérosols microbiens a été suivie. Par exemple, une étude de surveillance microbiologique réalisée par Shaffer et Lighthart (1997) à Oregon, Etats-Unis montre la concentration de bactéries cultivables dans 4 zones : une rue de la ville, un champ de seigle, une forêt de sapins et une falaise dans la côte pacifique. Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous, d'où nous pouvons observer que la concentration maximale a été trouvée dans la zone urbaine : 609 UFC/m³⁽⁸⁾. Les auteurs remarquent *Bacillus ssp*, comme le genre le plus représentatif sur l'ensemble des échantillons dans toutes les zones de l'étude.

Une autre étude aux Etats-Unis réalisée par Shelton *et. al.* (2002), décrit la concentration d'espèces fongiques cultivables dans l'air extérieur (9616 échantillons) et dans l'air intérieur (2407 échantillons) dans 1717 bâtiments qui incluent hôpitaux, bureaux, écoles, industries et résidences entre 1996 et 1998. Ils ont trouvé que les concentrations de l'air extérieur sont 6 ou 7 fois plus élevées par rapport à celles de l'air intérieur comme il est possible d'observer dans les **Tableau 1-4 et 1-5**. En général, pendant l'automne et l'été, les concentrations sont plus importantes ; les concentrations élevées dans l'air extérieur ont été corrélées à des températures et humidités relatives élevées.

En Europe, par exemple, une étude réalisée à Vienne par Bauer *et.al.* (2008), décrit la concentration de spores fongiques pendant la période printemps-été en 2005, dans deux zones : une zone résidentielle située près d'un parc nommée «zone suburbaine» par les auteurs, et une zone

⁸ UFC : sigle qui signifie : unité formant une colonie.

résidentielle/urbaine avec une autoroute à proximité. Aucune différence statistique n'a été trouvée entre les deux sites, mais la concentration a été plus élevée dans les mois d'avril, juin et juillet, où les concentrations de PM10 ont été aussi élevées par rapport au mois de mai. En Espagne, Rodriguez-Rajo *et al.* (2005) ont mesuré la concentration de spores fongiques des espèces *Cladosporium cladosporioides* et *Cladosporium herbarum* et le genre *Alternaria spp* dans 3 villes : Vigo, Ourense et Trives située au nord-ouest du pays. Ils ont trouvé des concentrations élevées de spores à la fin de l'été et au début de l'automne en 2002 et ils concluent à une forte relation entre les conditions climatiques et les concentrations de spores. Dans d'autres zones urbaines, la concentration microbienne a été mesurée entre 30 et 1200 UFC/m³. Le **Tableau 1-4** regroupe quelques valeurs de concentration d'aérosols microbiens extraites de la littérature.

Tableau 1-4. Concentration des aérosols microbiens dans l'air extérieur

Ville/Pays	Concentration moyenne	Paramètre évalué	Référence
Oregon, États-Unis : zone urbaine zone forestière zone rural zone côtière	609 UFC/m ³ 522 UFC/m ³ 242 UFC/m ³ 103 UFC/m ³	Concentration de bactéries cultivables	(Shaffer & Lighthart, 1997)
Vienne, Autriche - zone suburbaine - zone urbaine	2,3 x 10 ⁴ spores/m ³ 1,8 x 10 ⁴ spores/m ³	Concentration de spores fongiques.	(Bauer <i>et al.</i> , 2008)
Etats-Unis : zones urbaines	500 UFC/m ³	Concentration d'espèces fongiques cultivables	(Shelton <i>et al.</i> , 2002)
Alentours d'industries agricoles	10-10 ⁹ UFC/m ³	Concentration de bactéries	Revue bibliographique : Gilbert & Duchaine (2009)
	10-10 ⁹ UFC/m ³	Concentration d'espèces fongiques	
Vigo, Ourense et Trives, Espagne : zones urbaines	4551-6672 spores/cm ³	Concentration maximale de <i>Cladosporium spp.</i>	(Rodríguez-Rajo <i>et al.</i> , 2005)
	63-113 spores/cm ³	Concentration maximale d' <i>Alternaria spp.</i>	
Sibérie	200-3200 UFC/m ³	Concentration de bactéries	(Agranovski, 2010)
	90-200 UFC/m ³	Concentration d'espèces fongiques	
Burgundy, France : alentours d'un hôpital	122 UFC/m ³	Espèces fongiques viables	(Sautour <i>et al.</i> , 2009)
Crète, Grèce : site Méditerranéen	38-120 UFC/m ³	Bactéries mésophiles	(Raisi <i>et al.</i> , 2010)
	57-733 UFC/m ³	Espèces fongiques mésophiles	
Cracovie, Pologne: zone urbaine	106-1211 UFC/m ³	Espèces fongiques cultivables	(Medrela-Kuder, 2003)
Italie : alentours de 10 hôpitaux	57 UFC/m ³	Espèces fongiques cultivables	(Perdelli <i>et al.</i> , 2006)
Centre-ville, Graz (Autriche)	30-2300 UFC/m ³	Spores fongiques xérophiles	(Hass <i>et al.</i> 2013)
	0-2500 UFC/m ³	Bactéries aérobies mésophiles	

Les genres bactériens les plus fréquents dans l'air extérieur sont : *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Achromobacter*, *Actinomyces*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas* et *Sarcina* (ACGIH, 1999). Les espèces fongiques les plus fréquentes dans l'air extérieur sont : *Cladosporium* et *Aspergillus*, qui peuvent représenter jusqu'à 50% du total d'espèces fongiques trouvées (Docampo *et al.*, 2011), mais aussi *Alternaria*, *Botrytis* et quelques *Basidiomycetes* (Morris *et al.*, 2008). Sautour *et al.* (2009) ont trouvé une prédominance de *Cladosporium* à proximité de leur lieu d'étude, un hôpital français comme on peut le voir dans la **Figure 1-10**.

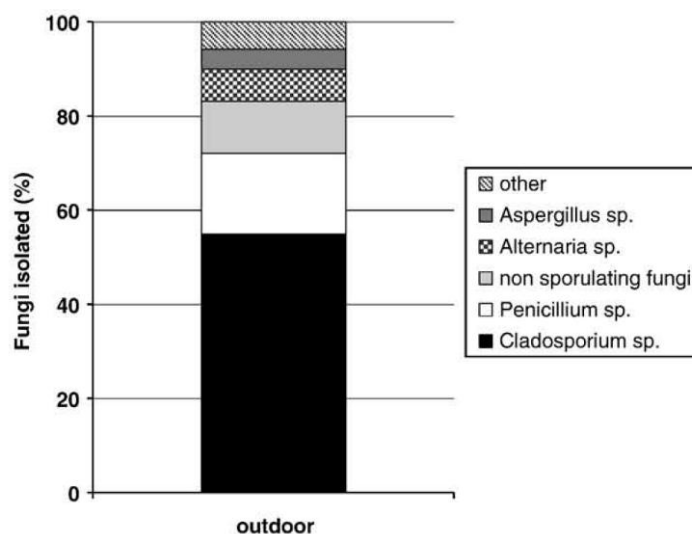


Figure 1-10. Distribution de moisissures dans l'air extérieur près d'un hôpital français (Sautour *et al.*, 2009).

Concernant l'association des microorganismes avec les particules, l'étude de surveillance microbiologique de l'air en Oregon (Etats-Unis) montre que les particules de diamètre aérodynamique supérieur à 3 μm sont fortement associées aux bactéries (Shaffer & Lighthart, 1997). Les travaux de Mancinelli *et al.* (1978) ont démontré une corrélation statistique positive entre les particules en suspension dans l'air d'une zone urbaine et le nombre total de bactéries viables des genres *Micrococcus*, *Staphylococcus* et *Aerococcus* (Mancinelli & Shulls, 1978). D'autre part, les spores fongiques correspondraient à 1-7% de la concentration de PM10 selon une étude réalisée dans une zone suburbaine de Vienne (Bauer *et al.*, 2008).

Ces éléments présentés nous donnent une vision de la diversité microbienne trouvée dans l'air et des différents paramètres agissant, mais permettent également de comprendre la qualité de l'air extérieur entrant dans une centrale de traitement, dit « air neuf ». Cette qualité de l'air a définitivement une influence sur la qualité de l'air intérieur (Shelton *et al.*, 2002).

III.2.2. Qualité microbiologique de l'air intérieur

La présence de microorganismes dans l'air intérieur a fait l'objet de plusieurs études. Il en ressort que les principales sources sont les matériaux de construction, les murs, le plafond, l'ameublement, les occupants, l'air extérieur et les centrales de traitement de l'air. Le laboratoire de microbiologie canadien IRSST (Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail) a identifié les genres microbiens présents dans 63 environnements de travail, incluant 36 édifices de bureaux, 12 écoles et 15 hôpitaux (Goyer *et al.*, 2001). Les souches bactériennes les plus fréquentes sont *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Micrococcus* et *Corynebacterium*, comme on peut le voir dans la **Figure 1-11**, tandis que les souches fongiques les plus fréquentes sont présentées dans la **Figure 1-12**, notamment *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Botrytis* et quelques *Basidiomycetes*. Les espèces identifiées avec un point rouge au-dessus des barres sont sporulantes. Les *Micrococcus* et *Staphylococcus* sont dominants dans l'air intérieur du fait de la présence humaine parce qu'elles sont présentes dans les membranes des muqueuses, et se retrouvent ainsi au niveau de la peau, des vêtements et des cheveux (Stetzenbach, 1998).

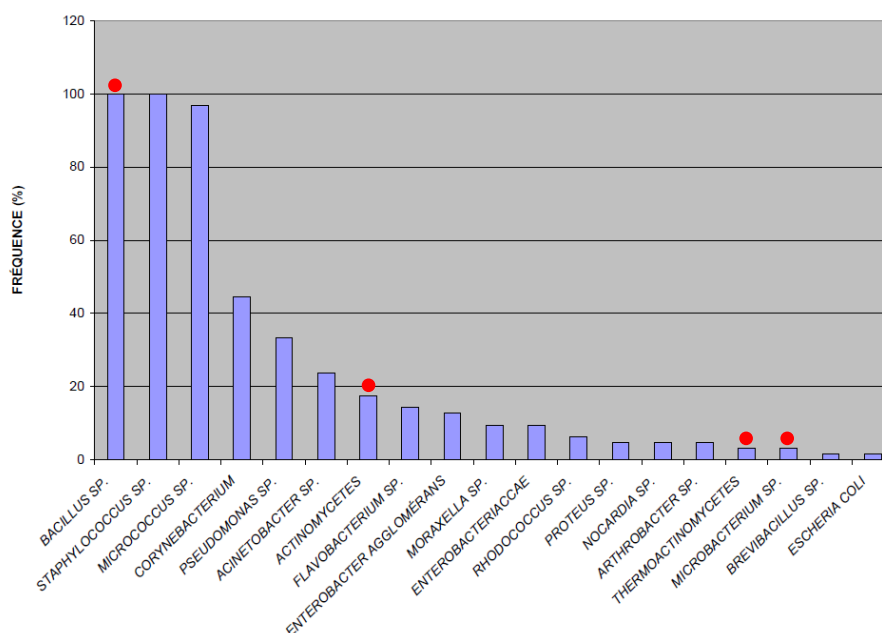


Figure 1-11. Fréquence de détection des bactéries trouvées dans 63 environnements de travail (IRSST - Goyer *et al.*, 2001).

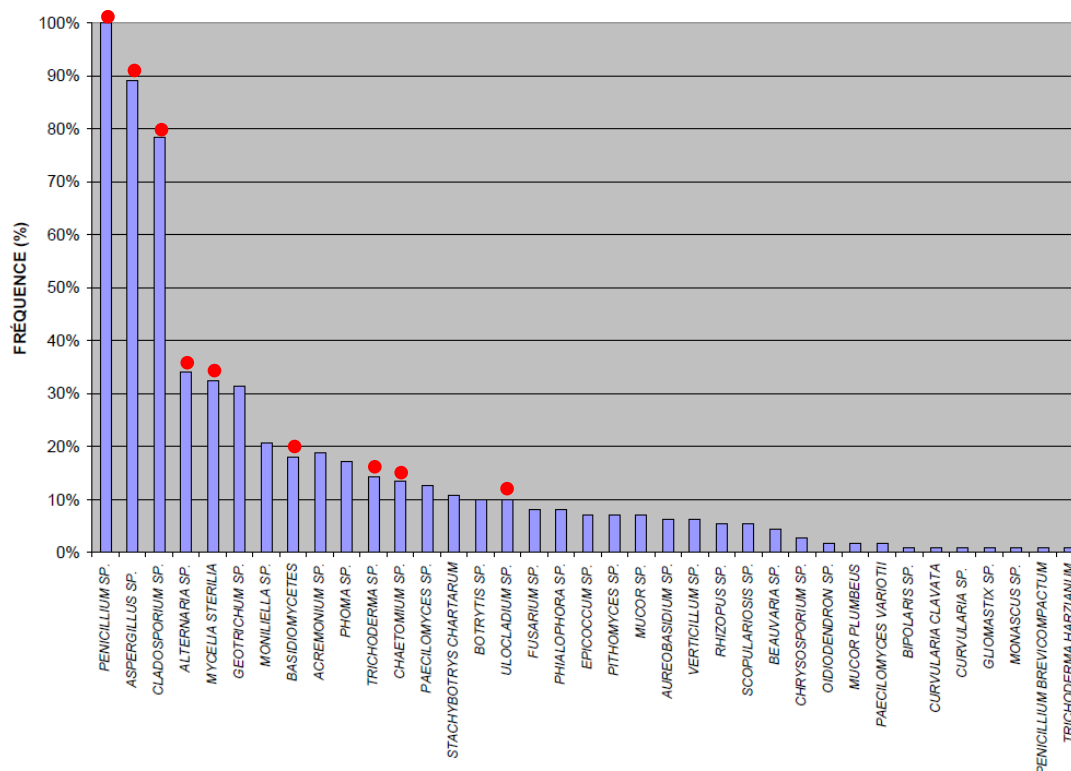


Figure 1-12. Fréquence de détection des espèces fongiques trouvées dans 63 environnements de travail (IRSST - Goyer et al., 2001).

Bonneta *et al.* (2009) ont observé une concentration de moisissures très élevée en hiver dans un bâtiment de bureaux, autour de 500 UFC/m³ suite à un événement d'inondation. Après séchage, ils ont refait l'essai et ils ont mesuré une concentration moyenne comprise entre 39-49 UFC/m³. Ils ont par ailleurs identifié les genres bactériens sur l'ensemble de 72 échantillons : la fréquence de détection est de 32% pour le genre *Micrococcus* et 44% pour le genre *Staphylococcus*.

Perdelli *et al.* (2006) ont mesuré la concentration de moisissures dans les milieux hospitaliers (10 hôpitaux) équipés d'un système de filtration ; des filtres HEPA⁹ (efficacité supérieur à 99,97%) pour les blocs opératoires et des filtres avec une efficacité supérieure à 80% pour les laboratoires, cuisines, ambiances de travail et autres départements. Ils ont également échantillonné dehors les hôpitaux (cf. **Tableau 1-4**). Ils ont observé que les blocs opératoires présentaient la concentration la plus faible de moisissures de 5 UFC/m³ en moyenne (range : 1-45 UFC/m³) ; ils ont trouvé entre 10 et 37 UFC/m³ en moyenne pour les autres ambiances (range : 1-120 UFC/m³) (**Tableau 1-5**). Ils concluent que les concentrations d'espèces fongiques à l'intérieur des hôpitaux sont inférieures à celles trouvées à l'extérieur et ils remarquent que la concentration de ces espèces est nettement réduite dans les ambiances équipées de systèmes de filtration de haute efficacité.

⁹ Filtres HEPA : sigles en anglais qui signifient : high-efficiency particulate air.

Araujo *et.al.* (2008) ont rencontré une concentration moyenne de moisissures de 100 UFC/m³ dans un hôpital à Porto, dans 18 salles : certaines d'entre elles équipées avec un système de filtration HEPA et d'autres non. Le genre *Penicillium spp.* a été le genre le plus fréquemment rencontré dans le 75% de l'ensemble d'échantillons, suivi par *Aspergillus spp.*, présente dans le 10% des échantillons. Ils ont conclu que les salles équipées de filtres HEPA et systèmes de pression positive présentent de faibles concentrations d'espèces fongiques, inférieures à 5 UFC/m³, par rapport à celles équipées avec des systèmes à pression négative. Les auteurs concluent aussi, que la filtration HEPA ne prévient pas complètement les infections nosocomiales produites par les « fungi » et ils recommandent de prendre d'autres mesures comme la présence d'une ante-salle et l'utilisation routinière de vêtements de protection.

Selon Sautour *et.al.* (2009), la présence d'*Aspergillus* est constante pendant toute l'année, autour de 20% dans les salles d'hématologie d'un hôpital français. Ils ont observé les genres *Alternaria* et *Penicillium* pendant l'automne et le genre *Cladosporium* est apparu comme le plus abondant pendant le printemps et l'été. Bonnetta *et.al.* (2009) ont trouvé une prédominance de *Penicillium* entre 60 et 68% tandis que *Cladosporium* a été le genre le plus fréquent en été (c.f. **Figure 1-13**). De manière générale, la concentration d'espèces fongiques dans l'air intérieur est plus faible que celle trouvée dans l'air extérieur.

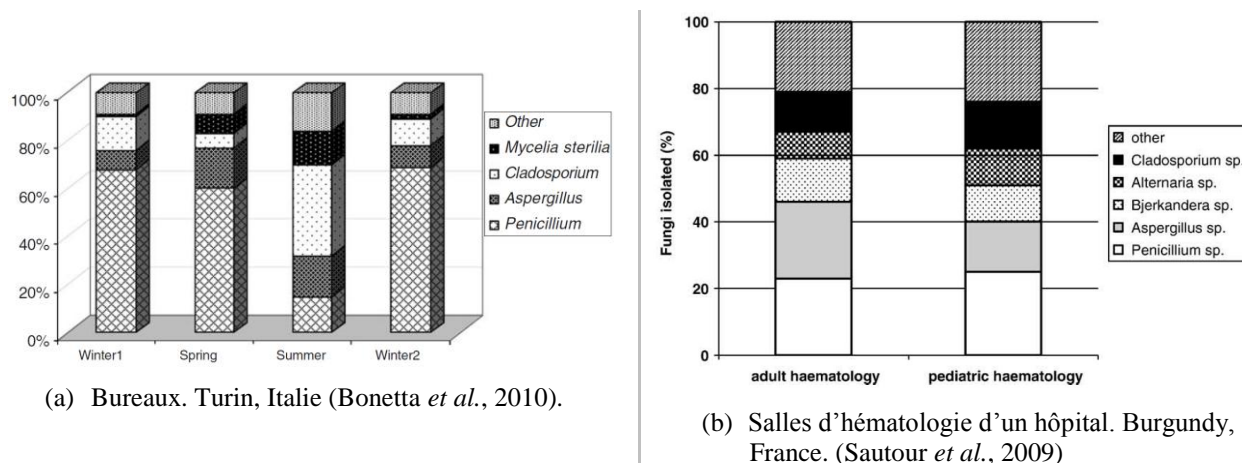


Figure 1-13. Distribution de moisissures trouvée dans l'air intérieur des bureaux (Turin, Italie) et d'un hôpital français.

Dans le **Tableau 1-5**, un résumé des concentrations d'aérosols microbiens trouvées dans la littérature est présenté dans différents environnements intérieurs.

Tableau 1-5. Concentrations d'aérosols microbiens dans l'air intérieur

Ville/Pays	Traitement de l'air	Milieu	Concentration Moyenne (UFC/m ³)	Référence
Burgundy, France	Technologie Plasmair TM (10)	Hospitalier / 2 blocs d'hématologie	4 (espèces fongiques viables)	(Sautour <i>et al.</i> , 2009)
Corée (région Kyunggi-do)	Ventilation mécanique	Hospitalier	404 (bactéries), 382 (espèces fongiques)	(Kim & Kim, 2007)
	Ventilation naturelle	Ecoles maternelles	931 (bactéries), 536 (espèces fongiques)	
	Ventilation naturelle	Foyer pour personnes âgées	294 (bactéries), 334 (espèces fongiques)	
	Ventilation mécanique	Maternité	586 (bactéries), 371 (espèces fongiques)	
Hong-Kong	CTA (pre-filtration et filtration avec filtres fibreux)	Bureaux	0-2912 (bactéries) 0-3852 (espèces fongiques)	(Law <i>et al.</i> , 2001)
Rio de Janeiro, Brésil	CTA	Industries	0-100 (hétérotrophes)	(Nunes <i>et al.</i> , 2005)
		Bureaux	300 (hétérotrophes)	
		Hospitalier	200 (hétérotrophes)	
		Centres commerciaux	300 (hétérotrophes)	
Corée	Ventilation (filtration non spécifiée)	Usine de denrées alimentaires	113-198 (bactéries) 89-124 (espèces fongiques)	(Kim <i>et al.</i> , 2009)
Turin, Italie	CTA avec filtration (50% d'air neuf et mélangé avec de l'air recyclé et filtré, efficacité de 85% vis-à-vis de particules de taille >3µm).	Bureaux	28-271 (bactéries) 39-872 (espèces fongiques)	(Bonetta <i>et al.</i> , 2010)
Lyon, Paris, France	CTA	Bureaux	50-300 (bactéries) <100 (espèces fongiques)	(Ginestet <i>et al.</i> , 2003)
Italie	Filtration HEPA (efficacité ≥99,97%)	Hospitalier / Blocs opératoires	5 (espèces fongiques)	(Perdelli <i>et al.</i> , 2006)
	Filtration (efficacité ≥80%)	Hospitalier / Autres départements	10-37 (espèces fongiques)	
Porto, Portugal	Certaines salles avec filtration HEPA et d'autres sans filtres	Hospitalier (18 différents salles)	100 (espèces fongiques)	(Araujo <i>et al.</i> , 2008)
Etats-unis (plusieurs villes)	-	Hôpitaux, écoles, bureaux, résidences et industries.	80 (espèces fongiques cultivables)	(Shelton <i>et al.</i> , 2002)
Toruń et Kórnik (Pologne)	Ventilation naturelle et mécanique	Bibliothèques (4) et un 1 entrepôt	19-86 (espèces fongiques) 123-712 (espèces bactériennes)	(Karbowska-Berent <i>et al.</i> , 2011)

¹⁰ PlasmerTM est un dispositif portable pour l'élimination de microorganismes dans l'air grâce à trois étapes : l'exposition à des champs électriques forts, bombardement d'ions positifs/négatifs et nano-filtration électrostatique (Sixt, et.al. 2007)

Ville/Pays	Traitement de l'air	Milieu	Concentration Moyenne (UFC/m ³)	Référence
Harbin, Chine	CTA et ventilation naturelle	Bureaux	283 – 4040 (espèces fongiques) 306 – 3710 (espèces bactériennes)	(Lu <i>et al.</i> , 2009)

La revue bibliographique présentée jusqu'ici, nous a permis d'observer la grande variabilité de concentrations et d'espèces d'aérosols microbiens dans l'air, ainsi que les multiples facteurs qui influencent leur présence dans l'environnement.

IV. Les aérosols microbiens et les impacts sur la santé

De nombreuses études ont mis en évidence des symptômes liés à la qualité de l'air des environnements de travail. Ces symptômes comprennent notamment l'irritation des yeux, du nez et de la gorge, maux de tête, fréquence respiratoire élevée, toux, fatigue mentale, nausée et vertige (Griffiths & DeCosemo, 1994). Ils sont souvent corrélés à la présence d'agents physiques, chimiques ou biologiques, mais dans certains cas, les causes ne peuvent pas être établies. Ainsi, un groupe de travail de l'OMS a introduit en 1983 le terme **SBS** en anglais, *Sick Building Syndrome* ou le syndrome des bâtiments malsains, pour désigner les pathologies sans cause attribuable. Les aérosols microbiens, notamment le genre *Penicillium*, et leurs métabolites secondaires ont été fortement impliqués dans cette problématique (Bonetta *et al.*, 2010).

Les agents pathogènes peuvent être dispersés dans l'air par transmission de gouttelettes (en anglais *droplet transmission*) ou par transmission « aérosolique » (en anglais *airborne transmission*). La transmission de gouttelettes est définie comme la propagation d'agents infectieux par particules qui peuvent rapidement se déposer du fait de leur taille, souvent un mètre (1m) après la génération. Cette génération peut se produire par des processus comme la respiration, l'éternuement et la toux. La transmission « aérosolique » est la propagation d'agents infectieux par particules plus petites capables de rester suspendues dans l'air pour de longues périodes de temps. Ceci implique donc une exposition plus prolongée, à plus d'individus et à longues distances de la source. L'OMS a établi que les particules plus petites que 5 µm sont dispersées par transmission « aérosolique » et que les particules plus grosses que 5 µm sont dispersées par transmission de gouttelettes (Gralton *et al.*, 2011).

La taille des bioaérosols est donc l'une de leurs caractéristiques importantes car elle détermine leur temps de séjour dans l'air ainsi que leur aptitude à pénétrer et demeurer plus ou moins profondément dans l'appareil respiratoire. Le tractus respiratoire supérieur (nez, pharynx et larynx) retient les particules plus grosses que 10 μm de diamètre et celles-ci sont rapidement rejetées. Le tractus inférieur (trachée et bronche) retient les particules comprises entre 3 et 10 μm . Les particules entre 1 et 2 μm arrivent au poumon où elles peuvent être à l'origine de maladies comme la rhinite et l'asthme. Ces particules fines ont donc un intérêt sanitaire particulier (Le Coq, 2006).

Les moisissures peuvent être responsables de pathologies respiratoires diverses parmi lesquelles se distinguent les manifestations allergiques, liées notamment aux genres *Penicillium*, *Aspergillus* et *Cladosporium*. Les infections, comme l'aspergillose, chez des sujets immunodéprimés est potentiellement mortelle (spores des espèces *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus flavus*) (c.f. **Tableau 1-6**). A cela s'ajoutent les métabolites secondaires des moisissures, les mycotoxines, qui sont des facteurs d'activation, voire d'aggravation de la réaction allergique. Le caractère cancérogène de certains de ces métabolites est également suspecté, par exemple, le cas de l'aflatoxine produite par *Aspergillus flavus* qui est capable de provoquer le cancer du foie.

Les bactéries peuvent provoquer des maladies comme la légionellose causée par *Legionella pneumophila*, la tuberculose causée par *Mycobacterium tuberculosis* et la pneumonie causée par *Mycoplasma pneumoniae* et *Streptococcus pneumoniae* (c.f. **Tableau 1-6**). Les *endotoxines* produites par les bactéries Gram-négatives peuvent occasionner des maux de tête, des nausées, des fièvres, toux et diarrhées à faibles concentrations. Elles sont connues pour avoir des propriétés adjuvantes et stimulantes de l'immunité et pour activer le système du complément et entraîner des phénomènes inflammatoires.

Les microorganismes libèrent aussi des composés organiques volatils qui peuvent provoquer des réponses irritantes chez les humains (Stetzenbach, 1998), mais aussi l'irritation des yeux et des membranes muqueuses du nez et de la gorge, ainsi que des maux de tête et léthargie (Fischer & Dott, 2003).

Les virus, les plus souvent transmis par l'air, dans leur condition de parasites nécessitant une cellule hôte pour se multiplier, sont responsables de maladies respiratoire comme la grippe, le rhume commun et aussi la pneumonie.

Une mauvaise qualité de l'air intérieur peut être la conséquence d'une mauvaise ventilation, de problèmes d'humidité ou encore d'un mauvais nettoyage. L'humidité est une cause du développement fongique et il existe un lien direct entre l'occurrence des symptômes respiratoires et l'humidité (Stetzenbach, 1998). Une étude récente a démontré la présence d'une trentaine de métabolites microbiens dans l'air intérieur d'un milieu clos endommagé par l'humidité : la coexistence de métabolites bactériens toxiques et de mycotoxines a été observée. Les métabolites bactériens ont été identifiés comme composants notamment produits par *Streptomyces*, un genre considéré comme indicateur de l'endommagement causé par l'humidité (Täubel *et al.*, 2011).

Tableau 1-6. Quelques maladies causées par des aérosols microbiens.

Maladie	Définition et symptômes	Agent infectieux
Légionelloses	Pneumonie infectieuse qui se contracte par inhalation de gouttelettes d'eau contenant la bactérie. Symptômes : Malaise, toux sèche, fièvre, douleurs musculaires et voire désorientation et léthargie. Cette maladie peut mener au coma et à la mort.	<i>Legionella pneumophila</i>
Tuberculose	Maladie infectieuse transmissible. La tuberculose pulmonaire est la forme la plus fréquente. Symptômes : Toux, amaigrissement, sueurs nocturnes, fébricule (38-38,5°C).	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
Pneumonie	Inflammation des poumons. Symptômes : toux, maux de tête, fièvre, augmentation de la fréquence respiratoire.	<i>Mycoplasme pneumoniae</i> et <i>Streptococcus pneumoniae</i>
Asthme	Inflammation chronique des voies respiratoires. Difficulté pour respirer.	Antigènes des bactéries
Influenza	Maladie résultant d'une infection caractérisée par maux de tête, fièvre, rhinites, etc.	Virus de l'influenza
Aspergillose	Toux permanente, crampes des muscles, yeux larmoyants et douleurs aux articulations.	<i>Aspergillus fumigatus</i> et <i>Aspergillus flavus</i>

V. Techniques de génération, échantillonnage et caractérisation des aérosols

V.1. Techniques de génération d'aérosols

Le premier pas pour développer des méthodes de contrôle des aérosols est d'avoir les équipements pour les générer artificiellement à l'échelle expérimentale (Byung Uk *et al.*, 2008). Les principes de génération sont les mêmes, tant pour les particules que pour les bioaérosols et il est possible de distinguer deux types de génération : par voie liquide et par voie sèche. La génération de *bioaérosols*, tout comme la génération de particules, doit en particulier :

- être reproductible à plusieurs essais,
- être de concentration constante dans le temps.

Mais elle a en plus un caractère spécial car elle doit :

- occasionner un minimum de stress sur les cellules pour éviter la perte de viabilité et de cultivabilité,
- simuler le mieux possible l'aérosolisation en conditions réelles.

Les virus et bactéries sont contenus dans des gouttelettes et sont libérés dans l'air à travers des processus comme la toux, l'éternuement, l'éclaboussure de la pluie ou le vent sur la surface de l'eau. Les spores fongiques sont dispersées normalement comme des spores sèches. Leur dispersion se produit de manière active, grâce à leur propre énergie, et de manière passive, dû à l'exposition de courants d'air, la manipulation mécanique ou l'éclaboussure de la pluie (Reponen *et al.*, 1997).

L'aérosolisation des particules fongiques dans l'air est conduite par :

- l'énergie produite par les espèces fongiques,
- l'énergie provenant des sources extérieures telles que les courants d'air en majorité, mais également la pluie, la gravité, les changements de température et de sources nutritionnelles.

V.1.1. Génération par voie liquide

La génération par voie liquide repose sur le principe de la mise en suspension dans l'air de gouttelettes à partir d'un milieu liquide. La génération par voie liquide peut s'effectuer par nébulisation (pneumatique ou ultrasonique) et par des systèmes type « bulleurs ».

Concernant les bioaérosols, les techniques par voie humide sont plus adaptées pour les bactéries (cellules végétatives ou spores), les levures et les virus (Simon *et al.*, 2011). Il est possible aussi de générer des spores fongiques (la plupart d'entre elles sont hydrophobes) avec un générateur liquide car la suspension microbienne est mélangée en continu grâce au barbotage ce qui contribue à la distribution des spores dans le liquide (Reponen *et al.*, 1997). Néanmoins, il faut savoir que bien que la méthode humide produise une faible quantité d'agglomérats, elle ne simule pas la libération de spores fongiques à partir de surfaces (Jankowska *et al.*, 2000). Certains auteurs ont observé la difficulté de la mise en suspension des spores fongiques et affirment qu'une méthode de génération par voie sèche est nécessaire (Kemp *et al.*, 1995).

V.1.1.1. La nébulisation

La nébulisation peut être pneumatique ou par ultrason. La *nébulisation par ultrason* produit des aérosols grâce à la conversion d'un signal électrique en vibration mécanique réalisée par des composants piézoélectriques. Cette vibration cause la dispersion d'une solution liquide en particules ultrafines avec une distribution polydispersée. Ce type de génération n'est applicable qu'à la

génération de particules et n'est pas recommandé pour la génération de microorganismes car elle peut endommager les protéines présentes et affecter fortement leur viabilité (National Research Council, 2006).

La *nébulisation pneumatique* consiste à pulvériser une solution liquide dans l'air par contact avec un flux d'air comprimé injecté à grande vitesse en produisant un aérosol polydispersé qui contient des gouttelettes d'une vaste gamme de taille (Griffiths & Birch, 1994) (cf. **Figure 1-14**). Le courant d'air comprimé crée une dépression locale qui provoque la remontée de la suspension liquide dans le tube, et au contact avec l'air, elle se transforme en gouttelettes : les gouttes les plus grosses sont déposées par inertie sur les parois du nébuliseur et puis réincorporées dans la solution tandis que les plus petites sont entraînées vers la sortie du nébuliseur. Ces dernières, après une étape de séchage, forment un aérosol polydispersé (Faure, 2010). Les nébuliseurs les plus utilisés pour la génération de particules sont les DeVilbiss® et Collison®, ce dernier est le plus utilisé pour la dispersion de microorganismes. Le générateur Collison a été utilisé pour la génération de *Staphylococcus epidermidis* et *Serratia marcescens*, avec plus de 90% de cellules indépendantes (Lundholm, 1982), c'est-à-dire une faible proportion d'agglomérats.

Si la solution liquide est une *suspension microbienne*, ce type de génération imposant des forces de cisaillement, cela peut occasionner de nombreuses sollicitations néfastes pour la viabilité et l'intégrité des microorganismes (Griffiths & DeCosemo, 1994; Mainelis *et al.*, 2001; Mainelis *et al.*, 2005; Reponen *et al.*, 1997). De plus, une grande partie du liquide est réintroduite ou recyclée dans la suspension donc il est probable qu'un microorganisme puisse subir de nombreuses fois le stress relatif à sa génération (Simon *et al.*, 2010).

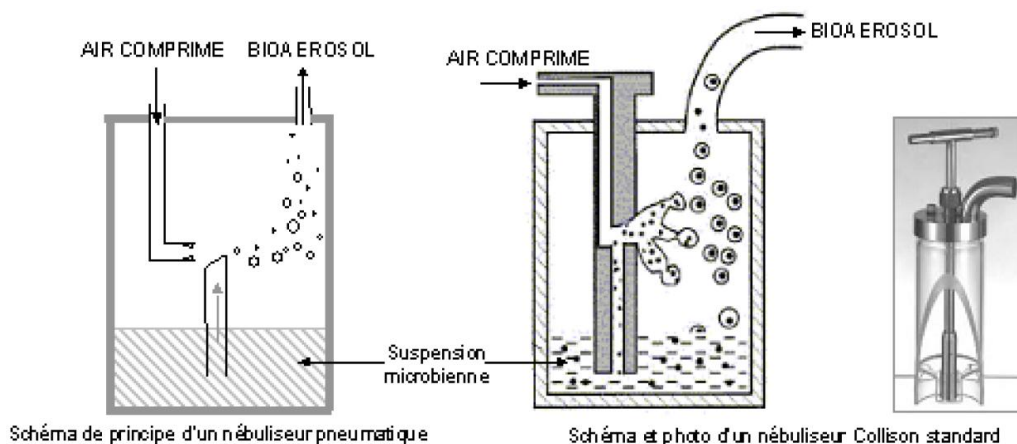


Figure 1-14. Le principe de la nébulisation pneumatique (Simon *et al.*, 2009).

Une augmentation de la vitesse de l'air introduit diminuera la taille des gouttes et inversement (Reponen *et al.*, 1997). Il est démontré aussi que des lavages successifs des bactéries en préparant la solution microbienne pour la génération humide, diminuent leur diamètre aérodynamique notamment après le premier lavage. Ces lavages sont nécessaires pour distinguer les spores fongiques et bactériennes des résidus au moment de caractériser la granulométrie des bioaérosols produits (Qian *et al.*, 1995).

V.1.1.2. Les systèmes type bulleurs

La génération d'aérosols par les systèmes « bulleurs » repose sur le principe de barbotage. Cette technique consiste à injecter de l'air comprimé à travers un disque poreux immergé dans une suspension liquide (Reponen *et al.*, 1997; Ulevicius *et al.*, 1997) (c.f. **Figure 1-15a**). Les gouttelettes formées sont déshydratées par l'injection d'un courant tangentiel d'air sec et elles sont entraînées vers la sortie du générateur par un deuxième courant d'air, lequel permet une réduction de leur taille. Les particules nébulisées peuvent avoir des charges électriques lesquelles sont souvent neutralisées après le processus de génération. Cette méthode est moins violente que la nébulisation pneumatique et réduit le stress imposé aux microorganismes (Mainelis *et al.*, 2001; Reponen *et al.*, 1996).

Une modification de ce type de génération a été effectuée par Mainelis *et.al.* (2005), qui ont imaginé le LSA (Liquid Sparging Aerosolizer) dans lequel le disque poreux n'est plus immergé dans la solution liquide de caractère microbien (c.f. **Figure 1-15b**). Cette dernière est amenée vers la surface du disque en formant un film liquide fin grâce à une pompe péristaltique. L'air comprimé d'aérosolisation délivré à travers le disque poreux traverse le film liquide en créant un barbotage, ainsi qu'un séchage des gouttelettes qui facilite la sortie du bioaérosol généré. Les particules non entraînées par le courant d'air sont récupérées au fond de la cuve et elles ne participent pas dans le processus d'aérosolisation. Par conséquent, les microorganismes dispersés ne subissent qu'une seule fois le stress propre de la génération.

Simon *et.al.* (2011) ont développé un nouveau générateur largement inspiré du LSA. Ils ont implémenté une injection d'air complémentaire d'entraînement qui améliore le séchage des particules dispersées. Ce débit complémentaire est formé par un mélange d'air humide et d'air sec en proportion variable et il est injecté en partie basse de l'enceinte de génération (c.f. **Figure 1-15c**).

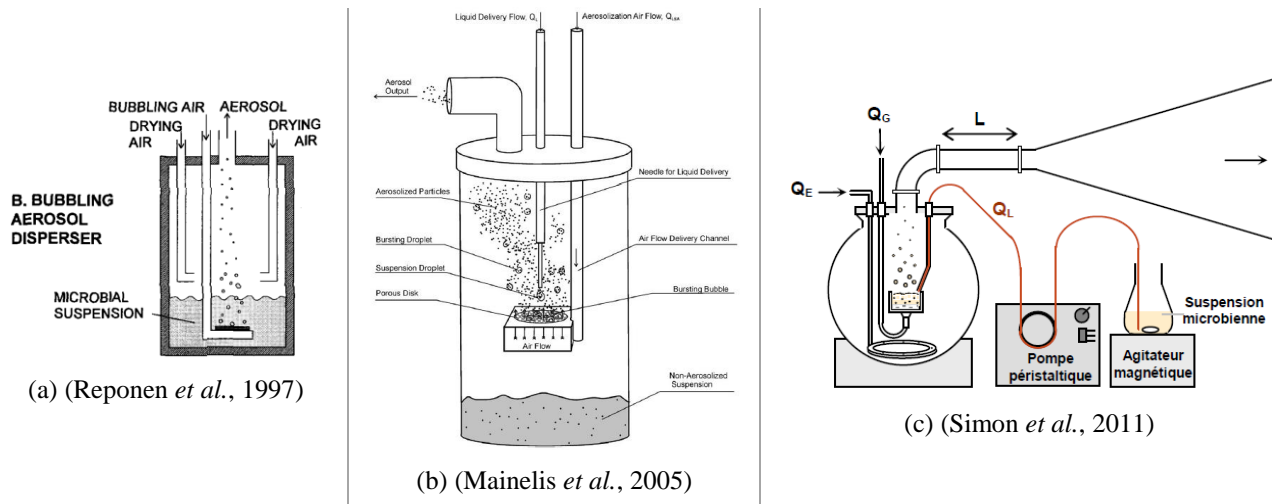


Figure 1-15. Les systèmes type « bulleur ».

En résumé, les facteurs qui influencent la survie des microorganismes sont (Griffiths & DeCosemo, 1994) :

- l'effet de cisaillement du flux d'air,
- l'impaction sur la surface du nébuliseur,
- la concentration de matériel dissous ou suspendu dû à la volatilité des composants chimiques,
- l'agitation du liquide dans le nébuliseur (agrégation ou désagrégation des microorganismes),
- la dessiccation des gouttes d'aérosol exposées à l'air,
- les effets délétères de certains métaux en contact avec les suspensions bactériennes,
- les effets destructeurs par oxydation lorsqu'une grande surface d'aérosol est exposée au flux d'air.

V.1.2. Génération par voie sèche

Cette méthode est largement utilisée pour la dispersion des particules de caractère non biologique. Elle repose sur le principe de frottement de la couche supérieure d'un lit de particules et ensuite l'entraînement de celles-ci par un courant d'air. Ce frottement peut être par vibration, par brosse tournante, par insufflation d'air, par agitation, etc., (Reponen *et al.*, 1997). La concentration de particules produites peut être de quelques mg/m^3 jusqu'à environ 100 g/m^3 . Pour bien disperser la poudre, il est nécessaire de fournir l'énergie pour vaincre les forces d'attraction entre les particules. Une bonne dispersion des particules dépend du type de poudre, de la taille des particules et de l'humidité.

Cette technique est aussi utilisée pour générer les moisissures et certaines bactéries (par exemple les spores ou cellules déshydratées, lyophilisées). Les microorganismes peuvent être séparés de leur milieu de culture, conditionnés sous forme de poudre et dispersés dans l'air par des techniques conventionnelles (Simon *et al.*, 2010). Reponen *et al.* (1997) distinguent trois différents types de génération par voie sèche : les méthodes conventionnelles, les générateurs de type « tube-agar » et de type flux cyclonique.

Parfois, certains auteurs utilisent un neutraliseur pour la dispersion de la poudre dans le cas d'un aérosol fongique mais selon Kemp *et al.* (1995) l'efficacité ne change pas et la charge électrostatique n'est pas un facteur important.

V.1.2.1. Générateurs conventionnels

Les générateurs conventionnels (c.f. **Figure 1-16a**) se basent sur la dispersion des microorganismes qui ont été séparés de leur milieu de culture sous forme de poudre, par exemple en déshydratant les microorganismes (ce qui affecte fortement leur viabilité), à partir de spores de moisissures ou d'actinomycètes très peu hydratés, ou par lyophilisation (Reponen *et al.*, 1996). Ensuite, la dispersion s'effectue par un courant d'air insufflé sur la surface de la poudre. Par exemple, le générateur « Pitt-3 cotton dust generator » a été utilisé pour la dispersion de spores de moisissures de *Penicillium* et *Aspergillus* (Laflamme & Miller, 1992), et de spores de *Stachybotrys atra* (Sorenson *et al.*, 1987). D'autres disperseurs de poudre ont été construits et utilisés pour générer des bioaérosols (Lee *et al.*, 2010; Scheermeyer & Agranovski, 2009).

V.1.2.2. Générateur à partir d'un milieu gélosé

V.1.2.2.a. Type « tube-agar »

Une méthode couramment utilisée consiste à générer un aérosol en faisant passer un flux d'air à la surface d'une culture microbienne sur un milieu gélosé (Faure, 2010). L'aérosolisation mécanique est observable lorsqu'un flux d'air est appliqué sur un matériau colonisé par différentes espèces en causant le relargage des spores. Pour cela, il faut que le mouvement de masse d'air ait une force supérieure à celle qui lie la spore au conidiospore. La vibration aide au relargage des spores fongiques à partir de leur milieu de culture et l'augmentation du temps d'incubation de plus d'une semaine permet d'obtenir une culture plus mature et un plus grand nombre de spores permettant une génération supérieure à 20 min (Scheermeyer & Agranovski, 2009). Il existe une multitude de méthodes et d'appareils utilisables pour l'étude des bioaérosols, mais la majorité d'entre elles n'est pas standardisée et leur caractérisation est souvent incomplète (Simon *et al.*, 2010) (c.f. **Figure**

1-16b). Reponen *et.al.*, (1996) ont généré des spores de *Penicillium brevicompactum*, de manière stable, en termes de distribution de taille.

V.1.2.2.b. Générateurs de type cyclonique

Ces sont des cylindres en verre dont une moitié longitudinale est occupée par un milieu gélosé à la surface duquel un microorganisme s'est développé. D'une manière générale, elle est utilisable pour tous types de spores, particulièrement les fongiques, car elle reproduit la manière dont ces microorganismes sont naturellement mis en suspension dans l'air (c.f. **Figure 1-16c**). Reponen *et.al.* (1996) ont testé ce type de génération pendant environ 90 min. Les expériences montrent que les spores d'actinomycètes sont généralement plus petites que les spores de moisissures, et que cette méthode ne fournit pas une concentration stable de spores d'actinomycètes du fait de leur faible taille.

Les méthodes de dispersion par voie sèche simulent l'aérosolisation des spores fongiques à partir de matériaux de construction ou à partir de systèmes de ventilation qui ne sont pas bien entretenus (Jankowska *et al.*, 2000). Dans le **Tableau 1-7**, un résumé des avantages et des inconvénients de chaque technique est présenté.

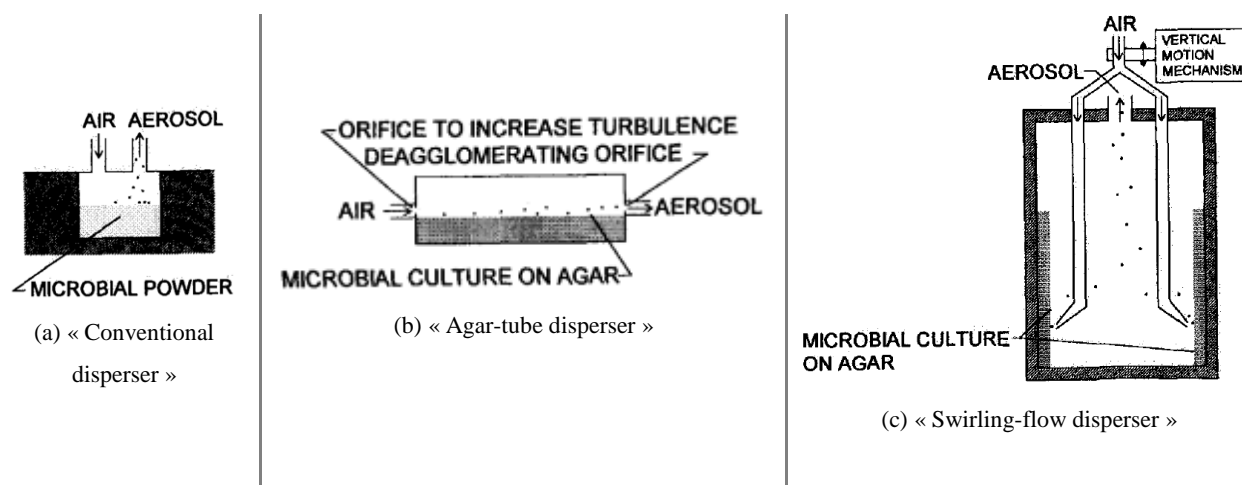


Figure 1-16. Les systèmes de génération par voie sèche (Reponen *et al.*, 1997).

Tableau 1-7. Avantages et inconvénients des systèmes de génération de bioaérosols.

GENERATION PAR VOIE HUMIDE		
Type de générateur	Avantages	Inconvénients
Nébuliseur pneumatique	<ul style="list-style-type: none"> * Forces de cisaillement plus faibles avec un orifice plus petit donc réduction du stress * Aérosol monodispersé (avec un orifice plus petit) 	<ul style="list-style-type: none"> * Forces de cisaillement * Aérosol polydispersé constitué de gouttelettes (large gamme de taille) * Recyclage des gouttelettes * Perte de viabilité (50%-90min) * Suspecté de dégrader et fragmenter les cellules biologiques * Augmentation des particules fines <0,4 µm
Nébuliseur ultrason	<ul style="list-style-type: none"> * Flux de sortie plus élevé que celui du nébuliseur pneumatique 	<ul style="list-style-type: none"> * Impaction de particules biologiques sur les parois du nébuliseur * Taille des particules plus grande * Plus cher
"Bubbling Aérosol disperser"	<ul style="list-style-type: none"> * Il y a moins forces de cisaillement par rapport aux nébuliseurs * Microorganismes sont moins chargés électriquement * Concentration stable de bactéries dispersées 	<ul style="list-style-type: none"> * Recyclage des gouttelettes (mais moins que pour les nébuliseurs)
LSA	<ul style="list-style-type: none"> * Pas de particules recyclées * Stabilité * Possibilité de régler la concentration de particules et le flux de sortie facilement. 	<ul style="list-style-type: none"> * Perte de viabilité (plus faible que pour les nébuliseurs)
LSA modifié	<ul style="list-style-type: none"> * Aérosol stable pendant les premières 60 min * Résultats reproductibles au niveau des concentrations 	<ul style="list-style-type: none"> * Reproductibilité au niveau des bactéries cultivables et des endotoxines mal maîtrisée.
GENERATION PAR VOIE SECHE		
Type de générateur	Avantages	Inconvénients
Générateur conventionnel	<ul style="list-style-type: none"> * Méthode convenable pour les spores de moisissures et d'actinomycètes. 	<ul style="list-style-type: none"> * Perte de viabilité
Générateur de type "tube-agar"	<ul style="list-style-type: none"> * Dispersion à partir de son milieu de culture * Adapté pour les spores fongiques 	<ul style="list-style-type: none"> * Possible amas de particules * Pas de concentration stable en générant de spores d'actinomycètes
Les générateurs de type flux cyclonique	<ul style="list-style-type: none"> * Concentration stable sur plus d'une heure * Possible amas de particules peut être contrôlé 	<ul style="list-style-type: none"> * Pas adapté pour les essais sur une longue durée.

V.2. Echantillonnage d'aérosols

L'échantillonnage des aérosols permet le prélèvement d'une fraction représentative d'une population d'aérosols et le transport de cette dernière jusqu'à l'appareil de mesure. Comme un processus physique complexe, l'échantillonnage dépend de l'aérosol à tester, de l'écoulement de l'air et de l'appareil de prélèvement (Renoux & Boulaud, 1998). Une analyse quantitative ou qualitative peut être faite. Le dispositif de prélèvement comprend un orifice d'aspiration, un conduit d'aspiration, un étage sélecteur et un étage collecteur (c.f. **Figure 1-17**) (Witschger, 1996). Une efficacité est associée à chaque étage du dispositif, de sorte qu'une efficacité d'échantillonnage globale peut être calculée et correspondant à la probabilité qu'une particule de l'aérosol se retrouve à l'étage collecteur :

$$E_E = E_C E_T E_S E_F \quad \text{Eq. 1-2}$$

Où E_C : efficacité de capture

E_T : efficacité de transmission dans le conduit

E_S : efficacité de sélection

E_F : efficacité de collecte.

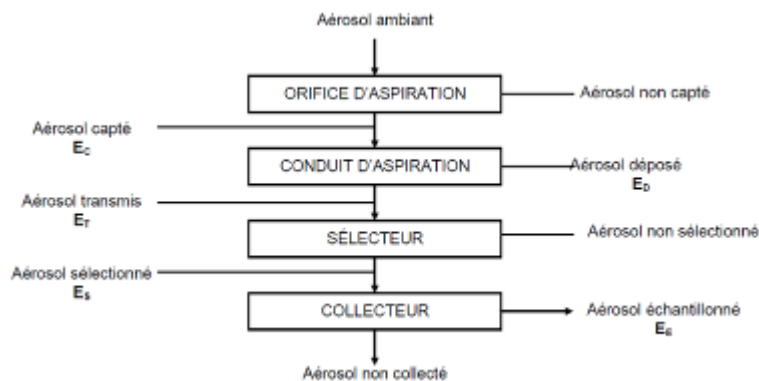


Figure 1-17. Schéma du processus d'échantillonnage d'aérosols (Witschger, 1996).

En général, les aérosols dans un conduit sont prélevés via une canne coudée à orifice circulaire et à bords minces. Le diamètre de l'orifice de la canne doit être dimensionné par rapport à la vitesse de prélèvement U_s . Si toutes les particules sont prélevées à la même vitesse du fluide v en amont du capteur, le prélèvement est *isocinétique*, c'est-à-dire que toutes les particules sont prélevées de façon équivalente et l'échantillonnage peut être considéré comme efficace. Dans ce cas, le rapport des vitesses $R=v/U_s$ est égal à 1. Pour les *aérosols microbiens*, une efficacité de collecte biologique (en termes de préservation de la viabilité) doit s'ajouter pour le calcul de l'efficacité globale. Plusieurs équations ont été proposées par différents auteurs dans la littérature pour le calcul de l'efficacité basées sur des données empiriques. Il en ressort que l'efficacité de capture E_c est

fonction de l'inertie de la particule que l'on quantifie par son nombre adimensionnel de Stokes¹¹, St , ainsi que par le rapport des vitesses R :

$$E_C = f(St, R) \rightarrow St = \frac{\rho_r d_{ae}^2}{18\mu} \cdot \frac{v}{D_c} \quad Eq. 1-3$$

Où ρ_r correspond à la masse volumique de référence (1000kg/m³ ou 1g/cm³), μ est la viscosité dynamique du fluide porteur, d_{ae} est le diamètre aérodynamique des particules et D_C est le diamètre intérieur du conduit.

L'efficacité de transmission E_T est définie comme la probabilité qu'à une particule captée de se retrouver dans le plan collecteur, c'est-à-dire d'être échantillonnée dans l'hypothèse où l'efficacité de collecte est totale. Cette efficacité a été aussi corrélée au nombre de Stokes ainsi qu'à un paramètre représentatif de la sédimentation dans un conduit nommé Z et au nombre de Reynolds¹² d'écoulement Re . Z correspond au rapport entre le temps de parcours de la particule dans le conduit au temps mis par la particule pour sédimenter ; si $Z > 1$, la particule se dépose (Renoux & Boulaud, 1998). Dans une configuration isoaxiale (le prélèvement se fait sur le même axe de l'écoulement) :

$$E_T = f\left(Z, \frac{St}{Re}\right) \rightarrow Z = \frac{L_c / U_s}{D_c / V_s} \quad Eq. 1-4; \quad Re = \frac{U_s D_c \rho}{\mu} \quad Eq. 1-5$$

Où L_C correspond à la longueur du conduit, V_s correspond à une vitesse de sédimentation dans le conduit, et ρ est la masse volumique du fluide.

L'efficacité de sélection E_s devrait être calculée si le capteur dispose d'un sélecteur ; généralement, l'efficacité de collecte E_F est supposée être de 100% (Renoux & Boulaud, 1998).

Les méthodes d'échantillonnage des aérosols biologiques et non biologiques, reposent sur les mêmes principes de base. Pour les *aérosols microbiens*, il s'ajoute des spécificités liées à la manipulation de matériel biologique, telles que l'établissement de protocoles garantissant l'asepsie du matériel utilisé, l'utilisation de substrats de collecte spécifiques et une attention particulière doit être portée lors du prélèvement pour éviter une perte de viabilité des organismes. Pour poursuivre, un résumé des différentes techniques de collecte va être présenté, et plus spécifiquement les techniques adaptées pour l'échantillonnage d'*aérosols microbiens*.

¹¹ Le nombre de Stokes est utilisé pour l'étude du comportement d'une particule dans un fluide. Il représente le rapport entre l'énergie cinétique de la particule et l'énergie dissipée par frottement avec le fluide.

¹² Le nombre de Reynolds caractérise un écoulement, par rapport à son régime, soit laminaire, transitoire ou turbulent. Il représente le rapport entre les forces d'inertie et les forces visqueuses du fluide.

V.2.1. Techniques d'Impaction

Le principe de la collecte par impaction est basé sur la différence de quantité de mouvement des particules. Les particules ont une tendance à effectuer un trajet direct alors que le flux est dévié par un obstacle en raison de leur inertie (Masclét & Marchand, 2004). Dans la technique d'impaction, l'air est aspiré et passe à travers une série d'orifices ou grilles et les particules s'impactent sur une surface cible de collecte. Il y a des impacteurs mono-étage qui sont constitués d'un seul ensemble grille-support. Les caractéristiques de la grille telles que le nombre, le diamètre et la distribution des orifices, la distance entre la grille et le support ainsi que le débit d'air échantillonné sont des éléments importants dans l'efficacité d'échantillonnage (Duquenne & Greff-Mirguet, 2005).

Les impacteurs multi-étages sont constitués de deux à huit étages unitaires superposés. Les caractéristiques de grilles, notamment le diamètre de coupure et la distribution des orifices, varient d'un étage à l'autre de sorte que la vitesse d'impaction change ce qui permet la discrimination des particules par taille puisque chaque étage collecte une fraction particulière aux propriétés aérodynamiques données (Faure, 2010). Dans la **Figure 1-18**, les particules d'une masse définie m_1 vont s'impacter sur le premier obstacle tandis que les particules plus légères de masse m_2 et d'inertie plus faible vont contourner l'obstacle à travers un orifice plus petit, c'est-à-dire, une vitesse plus grande et vont s'impacter sur l'étage suivant.

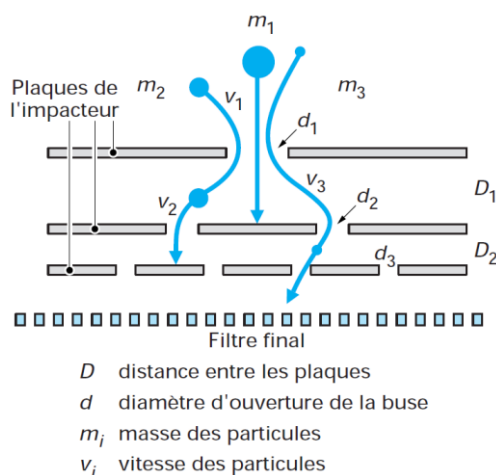


Figure 1-18. Schéma de fonctionnement d'un impacteur en cascade (Source : *Techniques de l'Ingénieur - Masclét & Marchand, 2004*).

Les diamètres de coupure sont définis comme les diamètres aérodynamiques correspondant à une efficacité de collecte de 50%, c'est-à-dire que 50% des particules de taille donnée sont recueillies sur la plaque nominale (Masclét & Marchand, 2004). Les inconvénients majeurs de cette technique d'échantillonnage sont les réentraînements et rebonds des particules à cause du mouvement de l'air, voire la volatilisation de particules sous forme de gaz. Les impacteurs en cascade donnent une

information supplémentaire par rapport aux dispositifs mono-étage, information relative à la distribution granulométrique de l'aérosol collecté (CSTB, 2006).

Il existe plusieurs marques d'impacteurs en cascade tels que DEKATI®, JOHNAS® et ANDERSEN® couramment utilisés pour l'échantillonnage de particules ; ces derniers sont aussi utilisés pour l'échantillonnage d'aérosols microbiens. Il existe d'autres dispositifs qui peuvent être consultés dans la revue de Griffiths et DeCosemo (1994). Par exemple les *Casella Slit* capables d'échantillonner à un débit maximum de 750 L/min sur une surface collectrice d'agar nutritif et les échantillonneurs RCS (Biotest Reuter Centrifugal Aerosol Sampler) qui reposent sur le même principe et qui fonctionnent à un débit de 40 L/min. Pour poursuivre, une brève description des échantillonneurs souvent utilisés dans la littérature va être présentée.

V.2.1.1. Impacteurs ANDERSEN

Les impacteurs ANDERSEN® peuvent être utilisés pour l'échantillonnage de bioaérosols où la surface cible est un milieu gélosé de culture, permettant le comptage de cellules *cultivables* et leur identification (Duquenne & Greff-Mirguet, 2005). Ces impacteurs sont composés de un, deux ou six étages, ce qui permet d'obtenir la distribution granulométrique de l'aérosol de façon plus ou moins précise. Un impacteur à 6 étages est présenté dans la **Figure 1-19a**. Il fonctionne à un débit de prélèvement de 28,3 L/min et la limite maximale de détection est de 10^4 UFC/m³.

Le temps d'échantillonnage semble conditionné par la texture de l'agar, puisqu'un long temps conduit à un séchage de la gélose et donc à une efficacité de collecte et une viabilité des microorganismes plus faibles. Une durée de cinq minutes paraît être la limite conseillée (Stetzenbach *et al.*, 2004). Cette méthode est aussi conditionnée par la concentration de microorganismes collectés et est plus adaptée pour de faibles concentrations de microorganismes pour éviter la saturation de la surface collectrice qui empêche le comptage des colonies (Gilbert & Duchaine, 2009).

De plus, cet appareil permet de trier les particules microbiennes par taille et notamment d'évaluer la fraction de particules respirables par rapport à celles non respirables par l'intermédiaire de 2 plateaux qui comportent chacun 200 orifices. Le diamètre des orifices est compris entre 0,6 - 7 µm. Le fabricant affirme que l'efficacité de capture des microorganismes cultivables ayant un diamètre supérieur à 0,8 µm est de 95% environ (Gillespie *et al.*, 1981). Cet appareil a été largement utilisé pour la collecte de différents microorganismes.

V.2.1.2. L'échantillonneur SAS (Surface Air System)

Le SAS est un impacteur à orifices mono étage portable et autonome qui fonctionne avec une batterie. Il recueille les particules sur des milieux nutritifs contenus dans des boîtes contact ou de Petri. Le débit d'échantillonnage varie de 90 - 180 L/min et il y a entre 220 et 260 orifices de passage de l'air échantillonné. L'efficacité de collecte est de 100% pour les particules de 4 à 20 μm , et seulement de 50% pour les particules de diamètre inférieur à 2 μm . L'appareil **MAS-100** repose sur ce principe, mais il a 400 orifices de 0,7 mm de diamètre (CSTB, 2006). Ces appareils sont présentés dans la **Figure 1-19**.

Lee *et.al.* (2004) ont comparé l'impacteur Andersen, le RCS et le SAS en termes de limite de détection, reproductibilité, et rendement pendant l'échantillonnage d'aérosols fongiques. Le SAS a été le moins performant des trois échantillonneurs. L'impacteur Andersen de six-étages est considéré comme le plus adapté pour le comptage d'organismes viables (Lee *et al.*, 2004).



(a) Impacteur Andersen 6 étages.

Source :

www.thermoscientific.com



(b) SAS. Source : Cherwell laboratories -

<http://www.cherwell-labs.co.uk/>



(c) MAS-100. Source :

<http://www.merckmillipore.com/>

Figure 1-19. Dispositifs d'échantillonnage d'aérosols microbiens par impaction.

V.2.2. Impingers

Les Impingers sont largement utilisés pour l'échantillonnage d'aérosols microbiens car ils sont dirigés vers un liquide de collecte par impaction inertielle ; le liquide collecteur est souvent de l'eau ou une solution de phosphate 0,3 mM, qui est considérée comme adaptée pour la conservation de microorganismes jusqu'au moment de l'analyse. Cette technique empêche la déshydratation des organismes collectés et est donc moins stressante pour les microorganismes par rapport à la filtration ou l'impaction sur une surface solide. Les « Impingers » permettent l'étude de la

communauté dans son ensemble, c'est-à-dire les microorganismes cultivables et non cultivables. Un des inconvénients de cette technique est la possible évaporation rapide du liquide collecteur, ce qui rend ces appareils adaptés pour de courtes périodes d'échantillonnage.

Il existe plusieurs appareils commerciaux qui suivent ce principe dont les plus couramment utilisés sont l'impinger *All Glass Impinger AGI* et le Biosampler. Il existe aussi le *MLI (Multi Liquid Impinger)* qui comprend trois étages de collecte en simulant les trois sites de dépôt du système respiratoire humaine. Chaque étage contient un volume connu de liquide collecteur stérile (Griffiths & DeCosemo, 1994). L'AGI est un impacteur spécialement conçu pour la collecte de microorganismes cultivables. Le modèle **AGI-30** a une meilleure efficacité que les « impingers » plus anciens. Le **Biosampler** de la société SKC fonctionne sur le principe de l'impaction liquide tourbillonnant (Patented Swirling Liquid Collection Method). Ces deux échantillonneurs vont être décrits de façon plus détaillée.

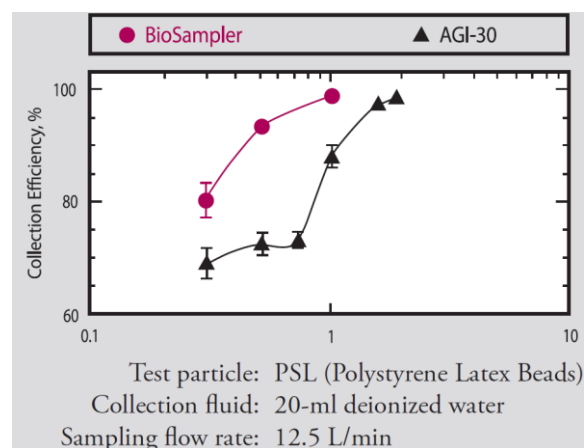
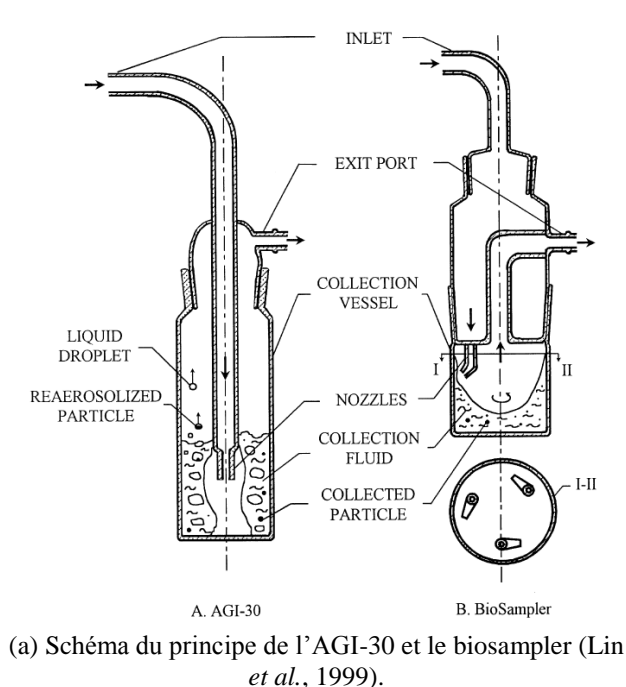
V.2.2.1. AGI-30

L'AGI-30 a été conçu en 1957 pour l'échantillonnage de microorganismes et une efficacité acceptable s'obtient pour les particules de taille comprises entre 0,3 et 12 µm (May & Harper, 1957). Les particules plus petites que 0,3 µm sont collectées avec une efficacité inférieure à 50%. Cet appareil consiste en un impinger composé d'un tuyau d'entrée courbe qui simule le passage des particules par les fosses nasales (c.f. **Figure 1-20a**). L'air aspiré barbote dans un liquide permettant la collecte en « douceur » de microorganismes. Le liquide collecteur est souvent 20 mL d'eau stérilisée avec 0,01% de Tween 80 et 0,005% d'un agent anti-mousse qui prévient les pertes importantes du fluide.

Lin et al. (1999) ont testé cet impinger pour l'échantillonnage de spores de *Penicillium citrinum* à différents débits de prélèvements entre 4,7-14 L/min qui correspondent à des vitesses entre 100-300 m/s. Ils ont remarqué que l'augmentation du temps d'échantillonnage et du débit diminue la survie des spores collectées. Ils ont collecté entre 4% et 24% des spores générées. A cause de la vitesse de prélèvement et du barbotage violent, cet appareil présente une perte de fluide collecteur considérable après 1 ou 2 heures d'échantillonnage. Quelques microorganismes peuvent s'échapper du fluide de collecte dû à la possible ré-aérosolisation et la viabilité peut être fortement affectée (Agranovski et al., 2002).

V.2.2.2. Biosampler SKC Inc

Le Biosampler repose sur le même principe que l'AGI-30, car il s'agit d'un tube d'entrée courbe qui simule l'entrée de l'air par le passage nasal en séparant les particules respirables des non respirables (c.f. **Figure 1-20a**). Les échantillons d'air sont collectés sur 20 mL de liquide préalablement stérilisé à 12,5 L/min pendant 15 ou 20 minutes car les liquides sont évaporables (Faure, 2010). Le Biosampler permet l'utilisation de liquides plus visqueux, ce qui diminue l'évaporation et la ré-aérosolisation (Gilbert & Duchaine, 2009); ceci peut permettre jusqu'à 8 h d'échantillonnage selon le fabricant. Le Biosampler présente une efficacité supérieure à 50% pour les particules plus grandes que 0,03 μm , plus de 80% pour les particules dont la taille est comprise entre 0,5 et 1 μm et plus de 95% pour les particules supérieures à 1 μm . Le liquide collecteur peut être analysé par une large variété de méthodes : la mise en culture, la microscopie, les méthodes d'immunologie, la cytométrie en flux et les méthodes moléculaires (Srikanth *et al.*, 2008).



(b) Efficacité de collecte de l'AGI-30 et du Biosampler mesurée pour particules d'essai PSL (billes de polystyrène latex) sur 20ml d'eau déminéralisée à 12,5L/min comme débit prélèvement (Source : Société SKC Inc ® - Publication 1603 Rev 1404).

Figure 1-20. Comparaison entre l'AGI-30 et le Biosampler : schéma de principe et efficacité de collecte.

Cet échantillonneur assure la préservation de l'intégrité des microorganismes et de leur viabilité. Il est possible de stériliser l'appareil et le liquide de collecte est facilement transférable au milieu de culture. Pour les particules inférieures à 1 μm de diamètre, l'efficacité de collecte diminue mais reste néanmoins meilleure par rapport aux anciens modèles (c.f. **Figure 1-21**).

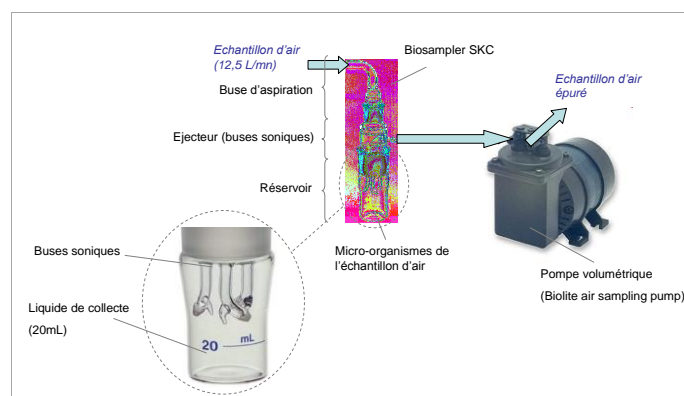


Figure 1-21. Biosampler. Figure adaptée par (Bonnevie-Perrier, 2008).

V.2.2.3. CIP 10-M

Le **CIP 10-M** est un capteur individuel de polluants microbiologiques, conçu par l'INRS, sur un liquide en rotation (2 - 2,5 mL). Il permet un échantillonnage à 10 L/min, et le fait d'avoir un liquide avec une certaine force centrifuge permet la collecte douce des microorganismes qui décrivent une trajectoire hélicoïdale et se déposent avec une vitesse voisine de celle du fluide. Le fluide peut être très pur comme de l'eau distillée ou des liquides plus visqueux comme des huiles ou la gélose molle (gélose appauvrie en agar, presque liquide). Dans la **Figure 1-22**, le schéma du principe de collecte est présenté.

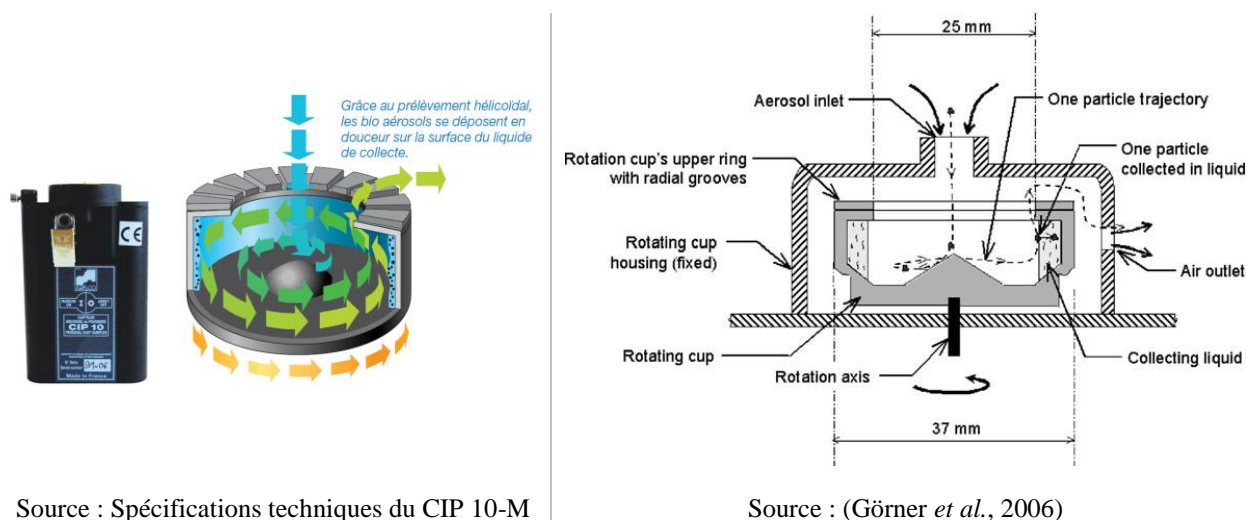


Figure 1-22. Echantillonneur CIP10-M et principe de collecte.

L'efficacité de collecte est supérieure à 50% pour les particules de diamètre aérodynamique supérieur à 1,8 μm , et supérieur à 95% pour les particules de diamètre supérieur à 2,8 μm . Pour les particules de diamètre inférieur à 1 μm , l'efficacité descend à 20% environ. Ce capteur a été étudié dans des milieux industriels pour l'échantillonnage de bactéries, espèces fongiques et endotoxines ; il est utilisé dans le domaine de la sécurité et santé au travail, pour estimer le niveau d'exposition de travailleurs aux aérosols respirables (Görner et al., 2006).

V.2.3. Filtration

La filtration est une approche particulièrement utilisée pour la collecte d'aérosols non biologiques mais il est aussi possible de l'utiliser pour la collecte d'aérosols microbiens, surtout de ceux qui sont résistants à la dessiccation, comme certaines espèces fongiques et bactéries formants des spores. La méthode consiste à séparer les particules de l'air en le faisant passer à travers un média filtrant. En général, il existe plusieurs types de filtres : poreux en fibre de verre et sous forme de membranes en éther de cellulose, polycarbonate ou chlorure de polyvinyle (c.f. **Figure 1-23a**). Il existe aussi des filtres en gélatine ayant une taille de pore de 3 μm pour la collecte d'aérosols microbiens, qui grâce à leur humidité inhérente maintiennent la viabilité des microorganismes (**Figure 1-23b**). Le matériau du filtre se dissout dans un milieu d'agar pour la détection et le dénombrement. L'efficacité de collecte est fonction de la porosité et l'épaisseur du filtre, du diamètre des particules et de la vitesse du flux d'air (Duquenne & Greff-Mirguet, 2005). Les échantillons collectés permettent le comptage de la communauté microbienne dans son ensemble.



Source : <http://www.gelifesciences.com/>

(a) Filtre type membrane en polycarbonate Nucleopore™



Source : Société SKC Inc ® - (Publication 1610 Rev 1301)

(b) Filtres en gélatine

Figure 1-23. Exemples de filtres utilisés pour l'échantillonnage d'aérosols microbiens.

L'efficacité de capture peut être de 90% et celle-ci dépend de la perte de charge à travers le filtre : elle diminue quand la perte de charge augmente, donc quand le filtre se colmate. Cette méthode est simple à utiliser et peu chère mais il peut y avoir une perte de viabilité des cellules végétatives à cause de la dessiccation (Eduard & Heederik, 1998; Srikanth *et al.*, 2008). D'autres inconvénients de cette technique sont les différents phénomènes électrostatiques, de sédimentation et de réaction chimique qui se produisent pendant la filtration. L'absorption d'eau peut être gênante quand il faut déterminer la masse de particules. Donc, des conditions adéquates de température et d'humidité relative sont nécessaires pour le bon déroulement de l'échantillonnage. Il y a deux types de systèmes de prélèvement : les échantillonneurs à faible volume entre 1-2 L/min et les échantillonneurs à grand volume dont le débit est d'environ 70 m³/h (Masclat & Marchand, 2004).

Néanmoins, l'échantillonnage pour les bioaérosols se fait souvent pendant 15 min à un débit entre 1-50 L/min, en favorisant les faibles débits pour empêcher l'endommagement des structures des microorganismes capturés (Gilbert & Duchaine, 2009). La taille de pores des filtres varie entre 0,01 et 10 μm .

Une efficacité de filtration de 99,9% des filtres en gélatine a été mesurée pour des particules entre 0,5 μm et 3 μm . Néanmoins, la viabilité des microorganismes diminue lorsque le temps d'échantillonnage augmente. Une filtration de soixante minutes correspond à 50% de l'efficacité observée pour une minute d'échantillonnage (Lundholm, 1982). Lin et al. (1999) ont collecté des spores de *Penicillium citrinum* sur des filtres type membrane (NucleoporeTM) et des filtres en gélatine, et ils ont trouvé une efficacité de collecte comprise entre 50 - 70% et 50 - 90% respectivement. Les filtres en gélatine diminuent le stress et la dessiccation pendant l'échantillonnage et ils sont appropriés pour les méthodes de culture et comptage de microorganismes viables et cultivables (Gilbert & Duchaine, 2009).

V.2.4. Méthode de sédimentation

Cette méthode est souvent utilisée pour la collecte de grosses particules. Cette méthode est passive et ne donne aucune information sur le volume d'air échantillonné (Srikanth *et al.*, 2008). Il est possible de parler indifféremment de sédimentation ou de centrifugation, quand on voit le principe d'un cycloséparateur : établissement d'un vortex dans le tube où les particules les plus grosses sont déposées au fond du cyclone par la force centrifuge (c.f. **Figure 1-24**). Pour l'échantillonnage d'aérosols microbiens, un porte-objet de microscope ou une boîte de Petri contenant un agar nutritif est exposé à l'atmosphère pour collecter les particules qui tombent par sédimentation. Cette mesure dépend fortement de la taille des particules et du mouvement de l'air. Cette méthode n'est pas fréquemment rencontrée dans les publications.

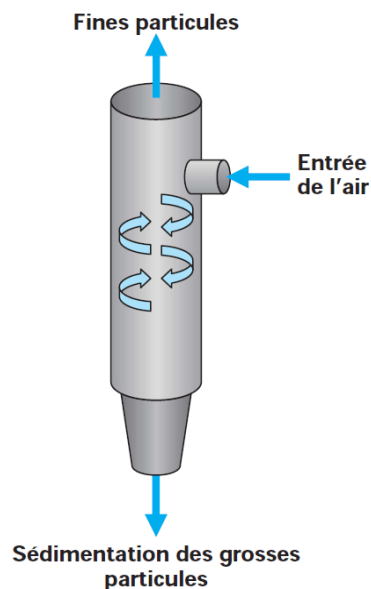


Figure 1-24. Cycloséparateur de taille de particules (Techniques de l'Ingénieur - Masclet & Marchand, 2004).

Plusieurs études comparatives entre les impacteurs Andersen, les Impingers AGI-30, les filtres en gélatine et les filtres-membrane ont été réalisées pour la collecte des aérosols. Dans les expériences de laboratoire de Lundholm *et.al.* (1982) avec *Staphylococcus epidermidis* et *Serratia marcescens*, l'Andersen apparaît comme le système le plus efficace, en termes de viabilité.

Le **Tableau 1-8** présente les différentes techniques de collecte d'aérosols décrites dans ce rapport avec leurs avantages et inconvénients, afin de pouvoir réaliser un choix d'échantillonneur. En fin, le succès de l'analyse dépend de l'échantillonnage et le choix de la technique de collecte devrait être déterminé par les objectifs de la mesure, le microorganisme cible et la quantification de la flore totale, viable ou cultivable.

Tableau 1-8. Avantages et inconvénients des techniques de collecte de bioaérosols

Echantillonneur	Avantages	Inconvénients	Remarques
Techniques d'Impaction			
Andersen ®	<ul style="list-style-type: none"> * Utilisation simple * Il permet la collecte de microorganismes sur des milieux de culture. * Il donne une indication de la granulométrie des aérosols. 	<ul style="list-style-type: none"> * Choc mécanique * L'épaisseur du milieu peut influencer la gamme de taille collectée * Risque de superposition et confusion de colonies à cause de zones préférentielles d'impact 	Débit de prélèvement : 28,3 L/min (6 étages).
SAS ®	<ul style="list-style-type: none"> * Dispositif portable * Il permet la collecte de microorganismes sur des milieux de culture. 	<ul style="list-style-type: none"> * Choc mécanique * Il a une reproductibilité basse (par rapport à l'échantillonneur Andersen et au RCS) (Lee <i>et al.</i>, 2004) * Inefficace pour les particules inférieures à 5µm (Griffiths & DeCosemo, 1994). 	Débit de prélèvement : 90-180 L/min.
CSS ®	<ul style="list-style-type: none"> * Débit de prélèvements importants * Collecte de microorganismes sur un milieu de culture. 		Débit de prélèvement : 750 L/min. Collecte sur un plateau d'agar rotatif
RCS ®	<ul style="list-style-type: none"> * Il a une limite de détection basse estimée par la densité de colonies (par rapport à l'échantillonneur Andersen et au SAS) (Lee <i>et al.</i>, 2004) 	<ul style="list-style-type: none"> * Inefficace pour les particules inférieures à 5µm (Griffiths & DeCosemo, 1994). 	Débit de prélèvement : 40 L/min
Impigment			
AGI-30 ®	<ul style="list-style-type: none"> * Peu coûteux et utilisation simple * Différents méthodes de caractérisation peuvent être utilisées * Efficace pour les particules comprises entre 0,3µm et 12µm 	<ul style="list-style-type: none"> * Evaporation des liquides et possibilité de re-aérosolisation de microorganismes. 	Débit de prélèvement : 12 L/min
Biosampler ®	<ul style="list-style-type: none"> * Utilisation de liquides plus visqueux pour réduire l'évaporation des liquides. * Haute efficacité de collecte * Stérilisation par autoclave possible * Différents méthodes de caractérisation peuvent être utilisées. 	<ul style="list-style-type: none"> * Evaporation de liquides, donc temps d'échantillonnage plus court. 	Débit de prélèvement : 12,5 L/min
CIP-10M (Capteur individuel)	<ul style="list-style-type: none"> * Prélèvement hélicoïdal sur fluide rotatif permet de maintenir l'intégrité des cellules microbiennes. * Collecte sur de nombreux fluides 	<ul style="list-style-type: none"> * Inefficace pour les particules inférieures à 3µm. 	Débit de prélèvement : 10 L/min. Vitesse de rotation : 7000 tour/min.
Filtration			
Polycarbonate	Méthode simple, peu coûteuse et versatile.	<ul style="list-style-type: none"> * Phénomènes électrostatiques, de sédimentation et de réaction chimique qui se produisent pendant la filtration. * Perte de viabilité à cause de la dessiccation. 	La filtration permet la collecte d'aérosols microbiens peu concentrés dans un débit d'air important.
En gélatine	Diminue la dessiccation	<ul style="list-style-type: none"> * Perte de viabilité plus faible par rapport aux autres types de filtres. 	

V.3. Caractérisation d'aérosols

En général, les *aérosols particuliers* sont caractérisés physiquement et chimiquement.

Pour la **caractérisation physique**, la forme, la taille, et le nombre des aérosols peuvent être identifiés. Pour la détermination de la forme des particules, la microscopie électronique à balayage est généralement utilisée pour les particules de taille comprise entre 0,001 et 1 μm (Masclat & Marchand, 2004). Pour le dénombrement des particules et la caractérisation granulométrique, des compteurs commerciaux sont disponibles. Par exemple les compteurs optiques sont largement utilisés pour les particules de taille comprise entre 0,2 et 40 μm . Les compteurs de noyaux de condensation sont utilisés pour les particules entre 0,01 et 2 μm . Les impacteurs sont utilisés pour les particules de diamètres compris entre 0,007 μm et 10 μm , comme le cas de l'impacteur électrique à basse pression ELPI (en anglais *Electric Low Pressure Impactor*).

Les *compteurs optiques* permettent une analyse de la distribution granulométrique et de la concentration en nombre de particules, comme par exemple le compteur PCS (Particle Counter Sizer) ou une version améliorée de celui-ci, le compteur Welas PALAS ®. Ces compteurs reposent sur le principe de la mesure de l'intensité lumineuse diffusée par une particule sous l'effet d'une lumière blanche incidente sur un volume de mesure très réduit. Cette lumière blanche est émise par une lampe xénon haute pression, dans le cas du compteur PCS, ou par une diode électroluminescente émettant un rayonnement « blanc » de très haute puissance, dans le cas du compteur Welas. Cette intensité lumineuse, qui est fonction de la taille des particules, est détectée sous un angle de 90° par rapport à l'axe optique de la source lumineuse. Ces compteurs déterminent le diamètre optique d_{opt} des particules. Le comptage optique est efficace car toutes les particules sont détectées dès que leur taille est suffisamment importante par rapport à la longueur d'onde du rayonnement utilisé ; en revanche, il peut exister un biais de mesure par rapport à la calibration et à la présence d'humidité. L'utilisation du compteur PCS montre qu'en pratique les mesures sont correctes à partir de 0,5 μm et que les concentrations maximales admissibles sont de l'ordre de 10^4 particules/ cm^3 (Chaucherie *et al.*, 2007). Dans le cas du compteur Welas, la gamme de concentration est plus large de l'ordre de 10^6 particules/ cm^3 et la gamme de mesure est comprise entre 0,2 et 40 μm pour 32 canaux de mesure. Cet appareil permet également de définir un indice de réfraction correspondant à chaque type de particules à analyser.

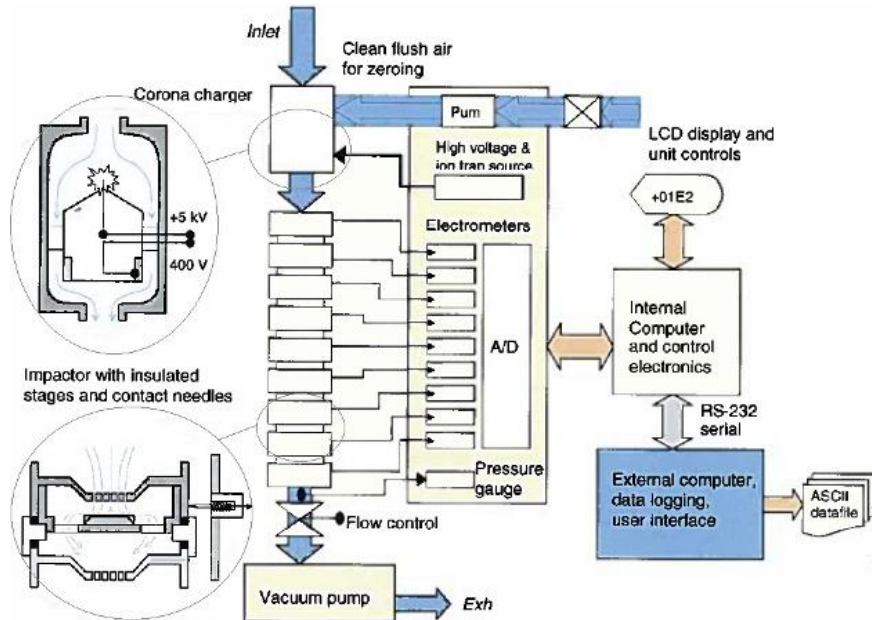
Un autre compteur optique qui est utilisé pour la mesure instantanée de la concentration et la granulométrie de particules est le compteur Grimm 1.108. Il s'agit d'un photomètre ayant un système optique à faisceau laser qui agit comme source lumineuse. La gamme de mesure est comprise entre 0,3 et 20 μm pour 15 canaux de mesure. Cet appareil est facilement portable ce qui représente un avantage. En revanche, la présence d'humidité dans l'air échantillonné peut influencer la mesure.

L'échantillonneur *ELPI* est un système de mesure de la granulométrie des particules qui repose sur le principe de base des impacteurs en cascade. Il dispose de 12 canaux de mesure compris entre 0,3 et 10 μm de diamètre aérodynamique. En entrée de l'impacteur, les particules passent au travers d'un chargeur Corona. Les particules chargées sont ensuite séparées en fonction de leur diamètre aérodynamique au travers de l'impacteur en cascade. Chaque plateau de l'impacteur est isolé électriquement et individuellement connecté à un électromètre qui enregistre les charges induites par les particules déposées. L'analyse du signal permet d'estimer le nombre de particules déposées sur chaque plateau. Le schéma du principe est présenté dans la **Figure 1-25**. Cette technique présente l'avantage de fournir une mesure en temps réel ; en revanche, les spectres obtenus sont peu résolus (12 classes au total). D'autres limitations de cette technique sont dues à une relative faible sensibilité (seuil de détection élevé) et à la diffusion de particules ultrafines sur les premiers étages d'impaction qui rendent difficile la détection de grosses particules souvent moins nombreuses (Chaucherie *et al.*, 2007).

Un autre appareil utilisé est l'*APS* (Aerodynamic Particle Sizer), qui permet la mesure en temps réel des diamètres aérodynamiques d_{ae} des particules comprises dans l'intervalle 0,5 μm et 20 μm . Dans ce dispositif, l'air porteur des particules est fortement accéléré en passant au travers d'un petit orifice. Du fait de leur inertie, caractérisée par leur temps de relaxation¹³, les particules vont mettre un certain temps avant d'ajuster leur vitesse à celle du fluide porteur. Le retard à l'ajustement est proportionnel à leur temps de relaxation et donc à leur diamètre aérodynamique. Ainsi, le d_{ae} peut être déterminé en mesurant la vitesse de chaque particule juste après l'orifice ; les petites particules ont une vitesse très proche de celle du fluide alors que les grosses particules ont une vitesse plus faible. La vitesse est mesurée à

¹³ Le temps de relaxation a pour expression : $\tau_p = \frac{\rho_p d_{ae}^2 C_u}{18\mu}$, où ρ_p correspond à la masse volumique de la particule, d_{ae} est le diamètre aérodynamique, C_u représente le facteur de correction de Cunningham et μ est la viscosité dynamique du fluide.

l'aide d'un faisceau laser dédoublé qui forme deux points au travers desquels les particules passent. Chaque particule produit deux impulsions lumineuses, converties en impulsions électriques par un photomultiplicateur. Le temps entre deux impulsions est mesuré par une horloge interne : il s'agit du temps de vol de la particule qui permet de remonter à son diamètre aérodynamique (Renoux & Boulaud, 1998). Le schéma de principe est présenté dans la **Figure 1-26**. La résolution de l'APS est de 32 classes de taille.



Source : Documentation ELPI (Dekati)

Figure 1-25. Schéma de fonctionnement de l'ELPI.

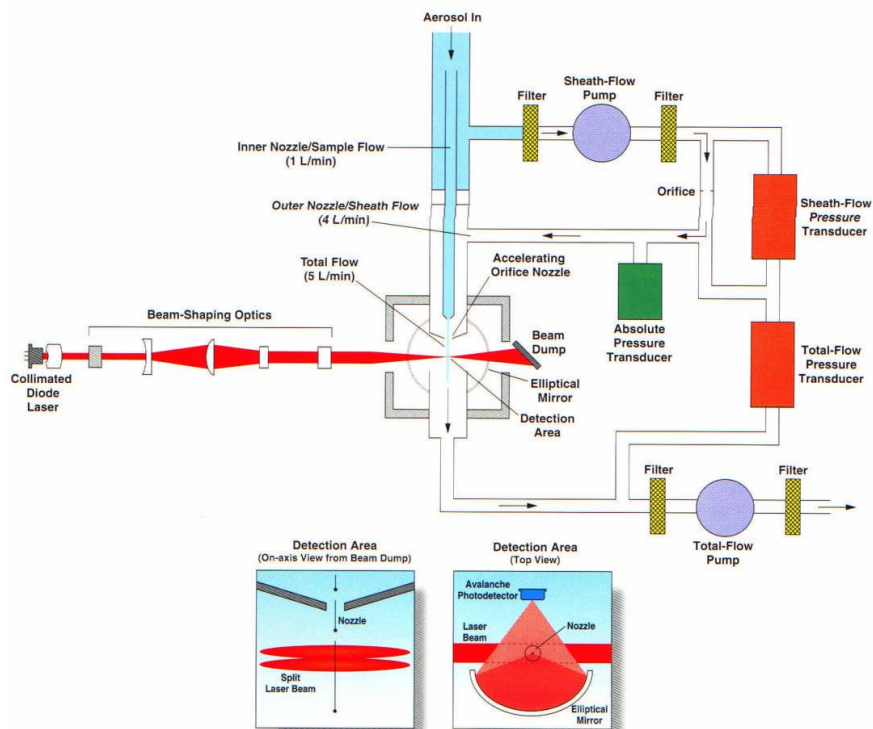


Figure 1-26. Schéma de principe de l'APS (TSI Incorporated, 2012).

Pour la détermination de la **composition chimique**, il est possible par exemple d'extraire la matière organique par une extraction ultrasonique à l'aide de solvants organiques polaires (Masclat & Marchand, 2004). Ensuite les techniques d'analyse chimique classiques peuvent être utilisées telles que la chromatographie en phase gazeuse (GC), la chromatographie liquide à haute performance (HPLC : en anglais *High Performance Liquid Chromatographie*), l'analyse de matière inorganique et de métaux, l'analyse d'ions et la mesure de carbone total.

Pour la **caractérisation quantitative et qualitative des microorganismes**, une large variété de méthodes a été développée. Les méthodes d'analyse sont définies en fonction des marqueurs microbiens recherchés dans les bioaérosols. Ces marqueurs peuvent être :

- des microorganismes,
- des composés ayant une action potentielle, infectieuse, toxique ou allergique sur la santé humaine,
- des éléments n'ayant pas d'action sur la santé mais permettant d'identifier ou de quantifier des groupes microbiens spécifiques (ergostérols pour les *Fungi*, acides nucléiques...).

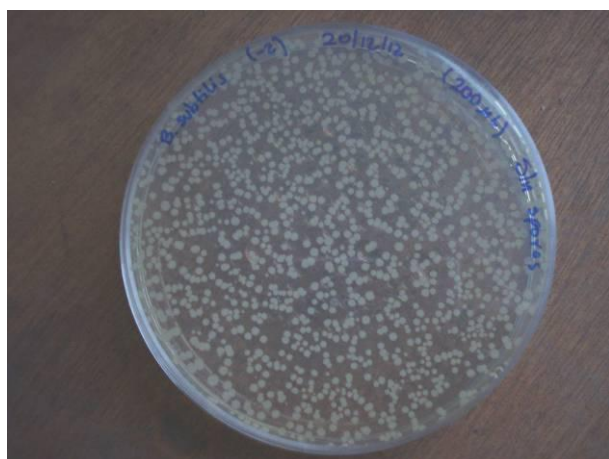
Dans tous les cas, il est préférable que ces méthodes soient validées en termes de compatibilité avec les dispositifs d'échantillonnage employés et qu'elles permettent d'atteindre les limites de détection et de quantification souhaitées (Faure, 2010). Il y a deux paramètres importants pour la caractérisation de bioaérosols atmosphériques : le nombre de microorganismes viables et la quantité de protéines étant considérées comme la base de tous les organismes vivants et en conséquence un marqueur universel pour les aérosols d'origine biologique (Agranovski, 2010). Cinq méthodes de caractérisation ont été identifiées dans la littérature (Griffiths & DeCosemo, 1994), et elles seront exposées de manière générale dans la suite.

V.3.1. Mise en culture - Cellules viables cultivables

Cette technique classique est largement utilisée par les chercheurs pour la quantification des microorganismes. Elle ne permet de quantifier que les microorganismes viables cultivables, raison pour laquelle certains chercheurs argumentent une sous-estimation de la concentration. Les bactéries et les espèces fongiques sont étudiées par le biais de culture sur milieux nutritifs lorsqu'ils sont cultivables dans des conditions favorables. Ces milieux nutritifs doivent être sélectionnés attentivement ainsi que la température et le temps d'incubation qui permettront le

développement de microorganismes. Le temps de croissance oscille entre 1 à 7 jours (Srikanth *et al.*, 2008), donc les résultats sont obtenus au terme de l'incubation.

La croissance est détectée par l'observation d'une colonie sur un milieu solide ou par un trouble dans un milieu liquide. Les résultats sont présentés en unités formant colonie UFC par unité de volume. Dans la **Figure 1-27**, des colonies de *Bacillus subtilis* et *Aspergillus niger* sur milieux nutritifs dans boîtes de Petri sont présentées. Pour la caractérisation d'un aérosol microbien, cette technique est largement utilisée en sachant que la population stressée ou endommagée généralement présente dans l'air, ne se comptabilise pas avec cette méthode. Des techniques de correction mathématiques existent pour minimiser ces limitations (Faure, 2010).



(a) Colonies de *Bacillus subtilis* après 24 heures d'incubation sur gélose ordinaire.



(b) Colonies de *Aspergillus niger* sur milieu RBC après 3 jours d'incubation.

Figure 1-27. Colonies de microorganismes cultivables sur milieux nutritifs.

Quelques types de filtres, par exemple ceux en gélatine, permettent la culture directe de microorganismes collectés en disposant la membrane sur la surface de la gélose nutritive. A cause de la variété des exigences nutritionnelles des microorganismes, il est impossible de trouver un milieu nutritif qui permette la quantification de tous les microorganismes de manière simultanée. Quelques chercheurs utilisent plusieurs milieux nutritifs et différentes conditions d'incubation telles que la température et le temps d'incubation (Gilbert & Duchaine, 2009). Cette technique ne donne aucune information de sous-produits biologiques comme les endotoxines ou les mycotoxines.

V.3.2. Méthodes d'observation directe

Les méthodes d'observation directe sont largement utilisées autant pour les aérosols particuliers que pour les bioaérosols. La microscopie permet d'identifier la forme des petites particules de taille comprise entre 0.001 - 1 μm . Cette technique permet le comptage, l'identification et la caractérisation des particules biologiques. Cette méthode ne permet pas de distinguer les particules cultivables des particules non cultivables, en revanche elle permet de différencier les cellules viables et non viables. La méthode d'expérimentation utilisée et l'expérimentateur sont des sources de variation importantes dans les dénombrements cellulaires. En général, trois types de microscopie sont utilisés : la microscopie optique, la microscopie à fluorescence et la microscopie électronique à balayage (MEB).

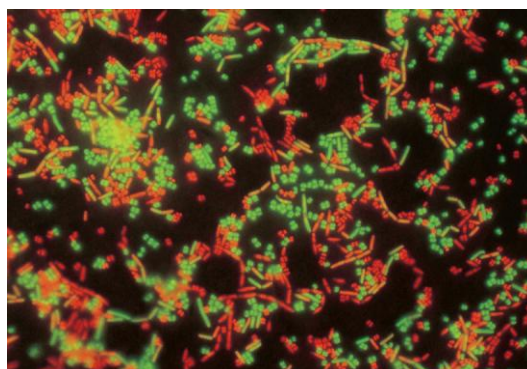
La **microscopie optique** permet généralement l'observation de particules de taille supérieure à 2 μm . Les spores fongiques peuvent être identifiées par cette méthode sans coloration quand elles sont collectées par impaction ou sur filtres de cellulose. La morphologie des petites spores des genres *Aspergillus* et *Penicillium* ne peuvent pas être distinguées morphologiquement par cette méthode car elles sont comptées dans une classe (Eduard & Heederik, 1998). Pour l'identification de bactéries, la coloration est nécessaire pour identifier la morphologie des cellules. La microscopie par contraste de phases est utilisée, notamment pour le comptage d'endospores car il est possible de les différencier des cellules végétatives (Griffiths & DeCosemo, 1994).

Il existe d'autres méthodes, par exemple le *test de Kogure*, utilisé pour le comptage de cellules viables. Ce test utilise l'extrait de levure et l'acide nalidixique. La levure a un but nutritif pour stimuler la croissance tandis que l'acide nalidixique bloque la réplication de l'ADN. Les cellules conservent donc la capacité de l'ensemble des processus métaboliques requis pour se diviser, c'est-à-dire la synthèse d'ARN, la synthèse de protéines et de la paroi cellulaire, à l'exception de la réplication d'ADN. Cela conduit, si la cellule est viable à une augmentation de volume cellulaire sans possibilité de division et à une croissance de type filamenteuse (Wilson & Lindow, 1992). Le dénombrement de grosses cellules se fait par microscopie optique.

Des colorants fluorescents sont utilisés dans la **microscopie à épifluorescence** qui permet de distinguer les bactéries vivantes ou mortes. Cette technique est applicable lorsque les échantillons sont collectés sur des membranes ou sur un liquide collecteur qui doit être filtré

(Eduard & Heederik, 1998). L'acridine orange ou le DAPI (4,6-diamino-2-phénylindole) sont deux des colorants les plus souvent utilisés dans la littérature. Ces deux fluorochromes ont la particularité de s'attacher à la chaîne d'ADN des cellules, ce qui permet l'observation et la quantification des microorganismes, mais ils ne permettent pas de distinguer les cellules non viables des autres. Les cellules et les spores fongiques peuvent être identifiées avec ou sans coloration. Commercialement, il existe des kits disponibles pour l'identification de cellules mortes et vivantes ainsi que l'identification de cellules qui respirent et de celles qui ne respirent pas (Gilbert & Duchaine, 2009).

Par exemple, le test *Live/Dead BacLight Bacterial Viability Assay* permet l'identification de l'intégrité de la membrane cellulaire pour établir la viabilité de la cellule. Il s'agit d'un mélange de deux colorants : un colorant vert fluorescent nommé SYTO¹⁴ et l'iodure de propidium¹⁵ qui est un colorant rouge fluorescent. Un seul des deux colorants est capable de pénétrer dans la cellule bactérienne, le SYTO, si la membrane est intacte. Dans le cas contraire, les deux colorants pénètrent la membrane cellulaire, est la cellule apparaît rouge. Un exemple de visualisation de la viabilité des bactéries d'un mélange de *Micrococcus luteus* et *Bacillus cereus*, est présenté dans la **Figure 1-28**. Certains auteurs ont reporté que la fluorescence du colorant SYTO est sensible au pH avec une fluorescence maximale pour des valeurs de pH bas (5,5 - 6,5). L'efficacité de cette méthode peut être limitée si la membrane cellulaire diminue sa perméabilité ou s'il n'y a pas une accumulation suffisante des colorants dans la cellule qui permette sa détection (Boulos *et al.*, 1999).



Source : www.lifetechnologies.com – © 2014 Thermo Fischer Scientific Inc. Used under permission.

Figure 1-28. Observation au microscope d'un mélange de *M. luteus* et *B. cereus* après utilisation du kit *Live/Dead BacLight* (Life Technologies).

¹⁴ Le colorant SYTO est un marqueur des acides nucléiques (l'ADN ou l'ARN).

¹⁵ L'iodure de propidium est un agent utilisé pour intercaler les acides nucléiques (l'ADN ou l'ARN), couramment utilisé comme marqueur de l'ADN des noyaux des cellules ayant perdu leur intégrité membranaire. Il est souvent utilisé dissous dans diméthyle-sulfoxyde DMSO.

La **microscopie électronique à balayage MEB** permet de caractériser les microorganismes par rapport à leur morphologie grâce à sa haute résolution. Cette technique est fondée principalement sur la détection des électrons secondaires émergents de la surface sous l'impact d'un très fin pinceau d'électrons primaires qui balaye la surface observée et permet d'obtenir des images. Un avantage de cette approche est qu'il est possible d'obtenir des images en 3D grâce à sa grande profondeur de champ ainsi qu'une magnification de 1,000,000X. Elle a été utilisée pour l'observation de spores bactériennes et fongiques (Eduard & Heederik, 1998; Wittmaack *et al.*, 2005) présentes dans l'air. Cette technique peut être utilisée quand les aérosols microbiens sont collectés sur des filtres de type membranes ou après filtration d'un liquide collecteur. Cette technique peut être couplée à un détecteur des rayons X pour quantification de leur composition chimique (Matthias-Maser & Jaenicke, 1995).

V.3.3. Biologie moléculaire

Les méthodes de biologie moléculaire sont basées sur la reconnaissance d'une séquence d'acides nucléiques spécifiques du genre ou de l'espèce, soit l'ADN ou soit l'ARN. Par exemple, la technique de la réaction en chaîne par polymérase ou PCR (Polymerase Chain Reaction) consiste à amplifier *in vitro* un fragment de l'ADN pour faciliter l'identification. C'est-à-dire qu'à partir d'une séquence d'ADN, il est possible d'obtenir plusieurs séquences strictement identiques. Un cycle de synthèse comprend une étape de dénaturation par chauffage du double brin d'ADN, une étape d'hybridation des amorces identifiées par la polymérase sur chacune des chaînes et une étape de synthèse. Ce cycle est répété plusieurs dizaines de fois (jusqu'à 40) ; à chaque cycle de synthèse la quantité d'ADN située entre les deux amorces est doublée (Vernozy-Rozand, 1999).

L'amplification en chaîne est possible grâce à l'utilisation d'une polymérase particulière, la *Taq* polymérase, isolée d'une archae-bactérie, la *Thermus aquaticus*, capable de résister à des températures élevées. Cette technique permet de détecter la flore bactérienne totale, active et morte, à des concentrations plus faibles par rapport aux méthodologies de mise en culture. Les résultats peuvent être obtenus en quelques heures (2 – 5 h), à la différence des méthodes de culture où il faut attendre des jours voire des semaines. Cette méthode est rapide, très sensible et très spécifique. Par contre, elle est complexe et des équipements sophistiqués sont nécessaires. Griffiths et Cosemo (1994) mentionnent que les réactions peuvent être inhibées dans des échantillons très concentrés ou contaminés. Cette technique a été utilisée pour

l'identification des communautés bactériennes et fongiques dans les particules (Franzetti *et al.*, 2011; Huttunen *et al.*, 2008). Il existe aussi des variations de cette technique, par exemple le PCR en temps réel qui est une méthode quantitative qui utilise des colorants fluorescents pour le marquage des copies des séquences d'ADN. Par rapport à la technique de PCR conventionnelle, elle permet une identification rapide des espèces de microorganismes (Dungan & Leytem, 2009).

D'autres méthodes de biologie moléculaire existent comme l'hybridation *in situ* en fluorescence (FISH en anglais : *fluorescence in situ hybridation*) ou l'électrophorèse sur gel en gradient dénaturant (DGGE en anglais *Denaturing gradient gel electrophoresis*) qui ont été utilisés pour l'identification de communautés bactériennes et fongiques (Andrès *et al.*, 2009).

V.3.4. Marquages Immunologiques

Le principe de cette approche repose sur l'association spécifique d'un antigène avec un anticorps qui est mis à profit pour compléter et affiner l'étude d'un microorganisme, telles que l'étude morphologique, physiologique et biochimique. Ceci est possible car au sein d'une espèce, des différences très fines apparaissent et la sérologie permet de différencier les individus d'une même espèce (Vernozy-Rozand, 1999). L'essai immuno-enzymatique ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay), par exemple, est souvent utilisé comme technique qualitative (Srikanth *et al.*, 2008). L'essai ELISA consiste à détecter un antigène et à le lier à un anticorps spécifique fixé sur un support. Un deuxième anticorps lié à une enzyme est utilisé pour la détection. L'ensemble anticorps-enzyme vient se fixer sur l'antigène. L'enzyme catalyse une réaction qui permet de quantifier la quantité d'antigène présent dans l'échantillon initial. Cette technique permet de quantifier la fraction non cultivable de l'échantillon.

Un autre exemple est l'immunofluorescence, qui est une technique qui combine les méthodes immunologiques et l'observation directe. Cette approche consiste à coupler un anticorps (ou moins souvent un antigène) à une substance fluorescente (l'isothiocyanate de fluorescéine (verte) ou de rhodamine (rouge)). Le complexe antigène-anticorps fluorescent est visualisé à l'aide d'un microscope à fluorescence (Vernozy-Rozand, 1999). Les inconvénients sont liés à la spécificité des anticorps relatifs à l'agent cible et aux liaisons non spécifiques avec les éléments présents dans l'échantillon.

V.3.5. Méthodes indirectes

Avec cette technique, il est possible d'identifier la concentration de biomasse totale dans un échantillon. Cette technique consiste à mesurer un composant exclusivement biologique nommé marqueur. En général, les protéines, les composés organiques volatiles d'origine microbienne (COVM), les fragments de parois cellulaires en suspension dans l'air (lipopolysaccharide, ergostérol, acides gras membranaires, acide muramique) ou les molécules entrant dans la composition ou le métabolisme cellulaire (enzymes, métabolites) sont sélectionnés comme marqueurs. Parmi les COVM, les alcools, les cétones, les terpènes, et les composés soufrés donnent une idée de la contamination microbienne dans les intérieurs sujets au syndrome des bâtiments malsains.

Pour les bactéries, la quantification des endotoxines est faite avec le test LAL (Limulus Amebocyte Lysate) qui est utilisé comme technique de comparaison mais n'est pas une technique analytique. Cette technique estime l'activité biologique liée aux lipopolysaccharides présents dans les endotoxines. Pour les moisissures, les glucanes, l'ergostérol ou les polysaccharides extracellulaires sont souvent quantifiés par spectrométrie de masse ou chromatographie de gaz (Srikanth *et al.*, 2008).

Dans le **Tableau 1-9** sont présentés quelques exemples des méthodes analytiques utilisées selon le type de microorganismes à caractériser. La chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse permet l'identification de certains constituants de l'enveloppe des cellules, comme les acides gras membranaires, l'ergostérol et l'acide muramique. Elle permet aussi la quantification des endotoxines, des COV produits par les microorganismes et des mycotoxines. La chromatographie liquide à haute performance HPLC permet l'identification des mycotoxines et de l'ergostérol.

Tableau 1-9. Méthodes analytiques pour la caractérisation des aérosols microbiens. Adapté de (Douwes *et al.*, 1996).

Microorganisme	Agent	Marqueur	Méthode analytique
Bactéries Gram-négatives	Endotoxines	Acides gras de type 3-Hydroxy	GC-MS.
Bactéries Gram-positives et Gram-négatives	Peptidoglycanes	Acide muramique	GS-MS
« Fungi »	β (1-3)-Glucanes		ELISA
		Ergostérol	GC-MS, HPLC
		COV biologiques	GC-MS
« Fungi »/Bactéries	Allergènes		ELISA
	Mycotoxines		MG-MS, ELISA, HPLC
		ADN	PCR

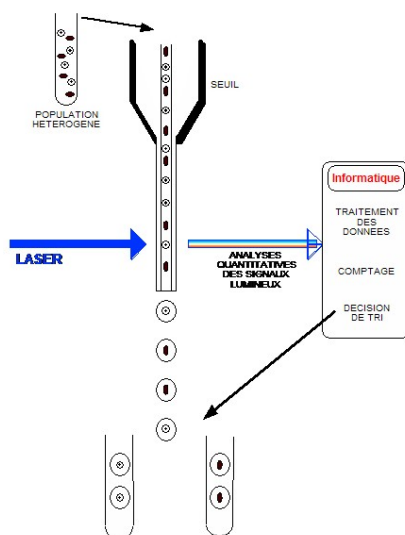
GC : Chromatographie de gaz

MS : Spectrométrie de masse

V.3.6. Autres méthodes

La cytométrie de flux (CMF) réunit différents principes de caractérisation qualitative et quantitative, qui ont été déjà évoqués dans ce rapport. La CMF est définie comme l'étude précise des cellules isolées entraînées par un flux liquide. En effet, les cellules à analyser doivent être centrées dans l'axe d'une veine liquide, et séparées les unes des autres, pour permettre une analyse cellule par cellule. Cette technique consiste à analyser les signaux optiques ou physiques émis par une particule coupant le faisceau lumineux d'un laser ou d'une lampe à arc, ce qui permet l'excitation de ou des fluorochromes (Hézar *et al.*, 2007). L'excitation des fluorochromes entraîne l'émission de signaux lumineux (photons) qui ensuite sont séparés par des filtres optiques et collectés par des photomultiplicateurs ; après amplification, ils sont transformés en signaux électriques, puis convertis en valeurs numériques reportées sur une échelle logarithmique comprenant 1024 canaux (c.f. **Figure 1-29**).

Ces signaux dépendent des propriétés optiques intrinsèques aux particules qui sont liées à la taille de particule, à leur structure interne ou à l'auto-fluorescence de certaines cellules comme les végétaux ou le phytoplancton.



Source : www.inserm.fr – URL : <http://cytobase.montp.inserm.fr/Cours/Cours.html>

Figure 1-29. Principe simplifié de la cytométrie de flux.

Plusieurs articles scientifiques font des comparaisons des techniques d'échantillonnage et de caractérisation. Par exemple, Terzieva et al. (1996) ont comparé l'influence du temps d'échantillonnage sur la concentration de bactéries (c.f. **Figure 1-30**). Il est possible d'observer les différences entre les méthodes utilisées : comptage utilisant de l'acridine orange, comptage par BacLight et comptage de particules à l'aide d'un Aerosizer. La concentration de bactéries reste relativement stable pendant les 60 min d'échantillonnage.

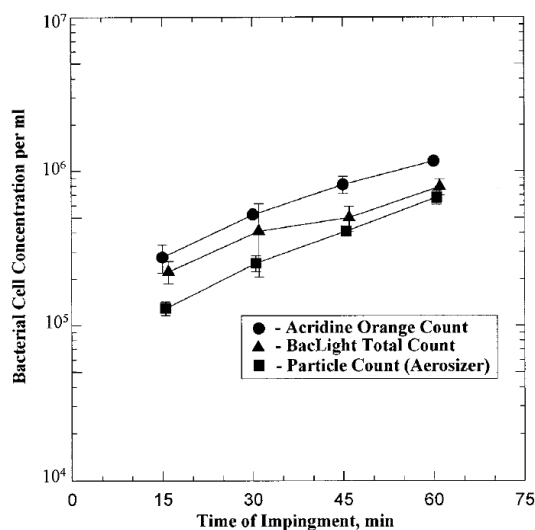


Figure 1-30. Concentration de cellules de *Pseudomonas fluorescens* collectées par l'AGI-30 mesurées par comptage à l'aide d'acridine orange, comptage par la méthode BacLight et par compteur de particules (Terzieva et al., 1996).

En résumé, il existe différentes méthodes pour la caractérisation et le comptage des aérosols microbiens et au moment de choisir la méthode d'analyse il faut définir quelle communauté microbienne est la cible de l'analyse.

VI. Centrales de traitement d'air

Les systèmes de ventilation de l'air ont deux objectifs : le renouvellement de l'air dans les environnements intérieurs et l'évacuation de polluants. La *ventilation naturelle* a lieu quand le renouvellement est assuré par circulation naturelle d'air, par exemple, par l'ouverture de fenêtres, les grilles d'aération et voire les défauts d'isolation.

Il existe aussi la *ventilation mécanique simple* qui a lieu quand le renouvellement d'air est effectué par l'extraction forcée de celui-ci par l'intermédiaire de gaines de ventilation. La ventilation provoque la mise en **dépression** du bâtiment, donc l'air de renouvellement est aspiré de l'extérieur par des bouches d'aspiration situées dans le bâtiment. La *ventilation mécanique* peut être aussi *contrôlée*, en réglant les débits d'air indépendamment des conditions extérieures (vent, pluie) et internes (nombre d'occupants, humidité). Il existe aussi la ventilation mécanique double-flux qui permet de limiter les pertes de chaleur puisque le système récupère la chaleur de l'air vicié extrait et l'utilise pour réchauffer l'air neuf filtré venant de l'extérieur à l'aide d'une CTA (ADEME, 2011b) ou le terme en anglais HVAC (Heating Ventilation and Air-Conditioning).

Les objectifs d'une CTA sont : obtenir un niveau de propreté spécifique, par exemple les salles à empoussièrément spécifique, assurer la protection des personnes et de l'environnement, contribuer à la qualité de l'air des locaux climatisés et procurer le confort aux occupants. Une CTA comprend différentes étapes. Tout d'abord il existe une ***chambre ou caisson de mélange*** qui est le point de rencontre de l'air recyclé et de l'air neuf. Il existe aussi une étape de ***climatisation*** de l'air qui consiste à l'augmentation de la température de l'air sans faire varier son humidité absolue grâce aux batteries de chauffage ou refroidissement telles que des batteries à eau chaude, électriques, d'eau glacée ou à détente directe. Une étape de ***réglage d'humidité*** est aussi présente, soit un processus de déshumidification (réalisé souvent par un processus de condensation en modifiant la température de l'air), soit un processus d'humidification réalisé souvent par pulvérisation. L'étape de ***filtration*** est aussi présente pour assurer la propreté de l'ambiance intérieure et le confort des occupants, l'élimination des particules et odeurs potentiellement dangereuses pour les occupants ainsi que pour la protection des équipements dans la CTA (Sublett *et al.*, 2010). Un schéma d'une possible configuration des différents processus dans une CTA est montré dans la **Figure 1-31**.

Un ventilateur qui fonctionne soit en soufflage soit en aspiration fournit la force motrice pour le déplacement de l'air à l'intérieur de la gaine.

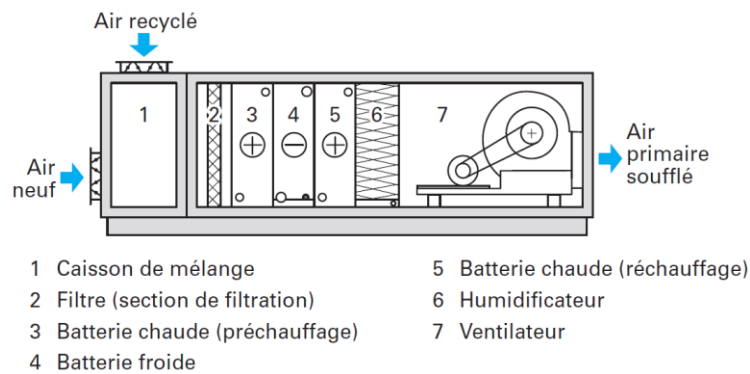


Figure 1-31. Processus dans une CTA (Techniques de l'Ingénieur - Bailly *et al.*, 2001).

Le taux de ventilation est typiquement compris entre 8,3 et 15 L/s par personne. En étudiant le déconfort thermique, il apparaît qu'à 30°C les individus présenteraient des réactions physiologiques telles qu'une augmentation de la fréquence cardiaque et du taux de respiration et une diminution de l'oxygène artériel. La température où les individus perçoivent une ambiance neutre serait de 22°C (Lan *et al.*, 2011).

L'efficacité d'élimination de microorganismes des CTA a été largement étudiée et différents auteurs confirment une diminution de contamination microbienne dans l'air intérieur voire une diminution de la fréquence de maladies liées aux milieux hospitaliers. Les ambiances équipées d'une filtration à haute efficacité présentent une concentration de spores fongiques plus faible (Perdelli *et al.*, 2006). En plus, ceux équipés d'un humidificateur ont été trouvés efficaces lors de l'élimination de spores fongiques (Bemstein *et al.*, 2005).

Néanmoins, d'autres auteurs considèrent que les CTA présentent des conditions appropriées pour la croissance microbienne (Kemp *et al.*, 1995; Kuehn *et al.*, 1991; Möritz *et al.*, 2001). Des microorganismes ont été détectés sur les surfaces de conduites de ventilation et leur croissance a été reportée dans la littérature. Par exemple, Lu *et al.* (2009) ont réalisé des mesures de concentration de microorganismes sur les surfaces de 10 CTA de 2 bâtiments du secteur tertiaire à Harbin (Chine). Ils ont observé des concentrations de bactéries et de champignons de 29 et 137 UFC/cm² respectivement, ce qui pourrait polluer l'air intérieur d'après les auteurs. Li *et al.* (2010) ont développé une conduite en bouclé fermée où ils ont dispersé de la poussière naturelle collectée d'un système centralisé de ventilation d'un musée à Shaanxi (Chine). Ils ont étudié le dépôt des particules et des microorganismes dans la

conduite. Ils ont observé un rapport proportionnel entre la quantité de poussière collectée et la concentration de microorganismes, principalement les champignons. Ils ont observé une croissance microbienne pour des valeurs de température entre 22 et 32°C et d'humidité relative entre 40 et 90%. La présence de composés organiques dans la poussière et l'humidité relative ont été les facteurs les plus influents sur la croissance microbienne. D'après Bonnetta *et al.* (2010), la croissance microbienne peut arriver aussi dans les CTA qui sont équipées des filtres peu efficaces où il y a condensation et stagnation d'eau. Le **Tableau 1-10** présente la concentration et les souches microbiennes trouvées dans les CTA.

Tableau 1-10. Présence de microorganismes dans les CTA.

	Microorganisme	Concentration (UFC/m ³)	Référence
Systèmes de climatisation (chauffage/refroidissement)	<i>Bacillus</i> spp.	10 ¹	(Stetzenbach, 1998)
	<i>Pseudomonas</i> spp.	10 ²	
	<i>Staphylococcus</i> spp.	10 ¹ -10 ²	
	<i>Thermo actinomycètes vulgaris</i>	10 ² -10 ³	
Tours aéro-réfrigérées, systèmes de dispersion de l'eau	<i>Legionella</i> spp.	-	(Stetzenbach, 1998)
Humidificateurs	<i>Legionella pneumophila</i>	10 ² -10 ⁴ UFC/ml	(Stetzenbach, 1998)
	<i>Pseudomonas</i> spp.	-	
Ventilo-convecteur	Bactéries (Gram+ et Gram-) Fungi (<i>Cladosporium</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Alternaria</i>)	10 ² -10 ³	(Lu et al., 2009 ; Li et al., 2012)

La présence de microorganismes a été aussi observée sur les filtres des réseaux de ventilation. Avant d'exposer cette problématique, un bref rappel théorique sur la filtration de particules sera présenté.

VI.1. Filtration de particules – rappel théorique

La filtration consiste à faire traverser un fluide, vecteur des aérosols, au travers un média filtrant (Renoux & Boulaud, 1998). Le filtre retient les particules qui obstruent progressivement les pores du média, améliorant ainsi l'efficacité de capture et en augmentant la perte de charge. L'air débarrassé d'une grande fraction des particules est amené jusqu'à un dispositif de mesure du débit tels que les rotamètres ou les débitmètres massique, puis à un système de régulation (pompes, trompe d'air ou réserve de vide).

Parmi différents types de média filtrant, il est possible de distinguer trois technologies : les milieux poreux granulaire tels que les colonnes de sable ou lits granulaires, les milieux poreux

consolidés tels que les frittés céramique et les média fibreux soient tissés ou non (Le Coq, 2006). Dans ces travaux, l'intérêt va être porté sur les média fibreux.

VI.1.1. Phases de filtration

Il est possible d'observer deux modes de fonctionnement pendant la filtration de particules qui conduisent à des modifications d'un filtre au cours du temps (Renoux & Boulaud, 1998):

- **Phase stationnaire** : Les modifications de la structure du filtre du fait de la capture de particules sont négligeables, par conséquent l'efficacité de collecte n'est pas affectée. Cela veut dire, que l'efficacité de collecte globale et la perte de charge, ne varient pas au cours de temps, et sont indépendantes du temps.
- **Phase non stationnaire ou dynamique** : Lors du colmatage avec des aérosols solides, les particules incidentes se déposent sur les surfaces collectrices formant ainsi un gâteau de filtration qui conduit à :
 - Une augmentation de l'efficacité de collecte
 - Une augmentation de la perte de charge

Pour un filtre à fibre homogène, il est possible de décrire l'évolution de la perte de charge d'une manière plus détaillée en identifiant 3 étapes de filtration (Bémer *et al.*, 2006) (c.f. **Figure 1-32**):

- **Filtration en profondeur** : Au début du processus de filtration, l'évolution de la perte de charge et de l'efficacité de filtration est linéaire. La ΔP augmente lentement tandis que l'efficacité croît rapidement jusqu'à l'apparition du gâteau de filtration. Etape 1 dans la **Figure 1-32**.
- **Transition** : correspond au début d'une perturbation de l'écoulement. Le média est fortement chargé en particules dans sa profondeur et partiellement recouvert de particules en surface. La ΔP et l'efficacité évoluent de façon non-linéaire : la ΔP augmente plus rapidement et l'efficacité évolue plus lentement (Thomas *et al.*, 2001). Etape 2 dans la **Figure 1-32**.
- **Filtration en surface** : correspond à la formation du gâteau de filtration qui mène à une forte perturbation de l'écoulement. L'évolution de la ΔP et l'efficacité est à nouveau linéaire. La ΔP augmente beaucoup plus rapidement tandis que l'efficacité ne varie presque pas. Etape 3 dans la **Figure 1-32**.

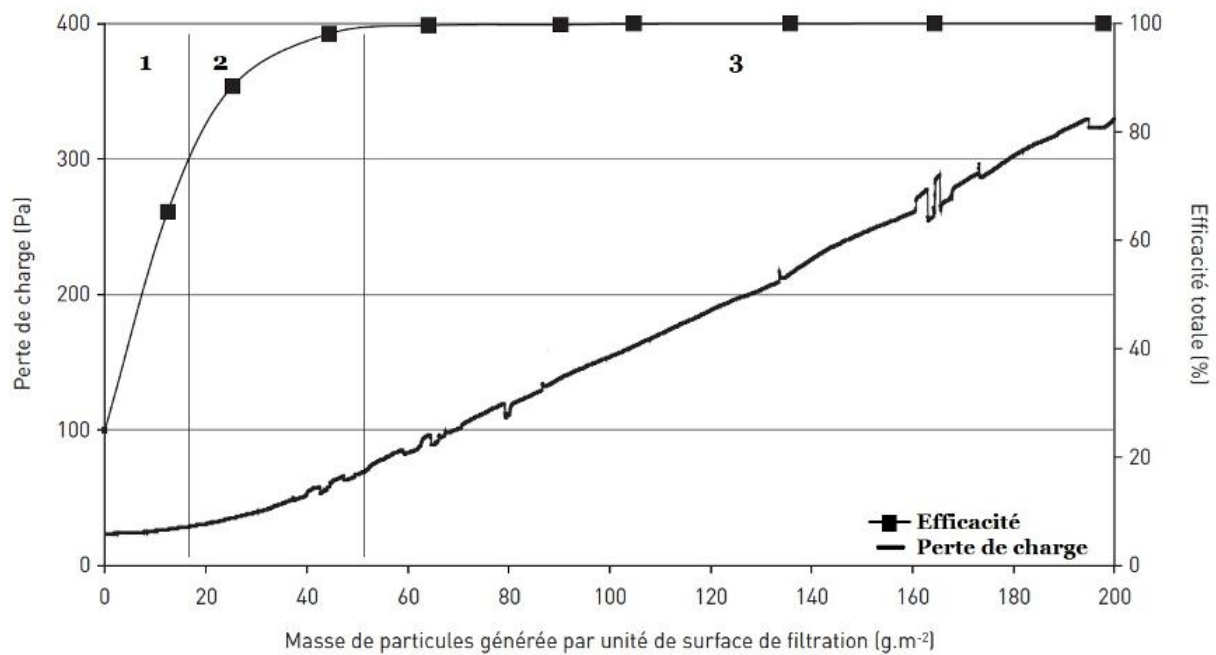


Figure 1-32. Evolution de la perte de charge et l'efficacité au cours de la filtration dynamique.
Adapté de (INRS - Bémer et al., 2006).

VI.1.2. Mécanismes responsables de la collecte des particules par les fibres

Les mécanismes responsables de la collecte par les fibres (c.f. **Figure 1-33a**) sont :

- **La diffusion brownienne** : les particules sont animées par des mouvements aléatoires du fait de leurs collisions avec les molécules de gaz. Ce mécanisme est efficace pour les particules de diamètres inférieurs à $0,1\mu\text{m}$ (plus la taille de la particule diminue ou plus la vitesse est faible, plus l'efficacité augmente) (Renoux & Boulaud, 1998). Le mouvement des particules peut être caractérisé par le coefficient de diffusion D_{diff} en fonction du coefficient de Cunningham Cu . Ce dernier prend en compte les discontinuités du milieu lorsque la taille des particules est proche du libre parcours moyen λ^{16} des molécules de gaz. Le nombre adimensionnel de Peclet Pe est aussi utilisé pour caractériser la capture des particules puisqu'il décrit le rapport entre le transport de particules par convection et le transport par diffusion (Le Coq, 2006).

Voici les équations pour calculer ces paramètres :

$$D_{\text{diff}} = \frac{kTCu}{3\pi\mu d_p} \quad (\text{Eq. 1-6}) \quad \rightarrow$$

D_{diff} : coefficient de diffusion brownienne (m^2/s)
 k : Constante de Boltzmann ($k = 1,38 \times 10^{-23} \text{ J/K}$)
 T : Température (K)
 μ : Viscosité dynamique du gaz (Pa.s)
 d_p : Diamètre aérodynamique de la particule (m)

¹⁶ Le libre parcours moyen des molécules gazeuses λ , résulte de la résolution des équations de Navier-Stokes et correspond à la distance entre deux collisions ou encore la dimension de vides. A température et pression normales, sa valeur pour l'air est de $6,4 \times 10^{-8} \text{ m}$.

$$Cu = 1 + Kn_p \left[1,207 + 0,44 \exp \left(-\frac{0,78}{Kn_p} \right) \right] \quad \begin{array}{l} \text{Kn}_p : \text{Nombre de Knudsen relatif à la particule} \\ Kn_p = \frac{2\lambda}{d_p} \end{array}$$

Eq. 1-7 →

$$Pe = \frac{d_p U_0}{D_{diff}} \quad \text{Eq. 1-8} \quad \rightarrow \quad U_0 : \text{Vitesse superficielle du fluide (m/s)}$$

Il existe de nombreuses expressions recensées dans la littérature donnant l'efficacité unitaire de capture par diffusion brownienne, η_d , (Thomas, 2001). Le modèle de Lee et Liu (1982) peut être cité :

$$\eta_d = 2,6 \left(\frac{1-\alpha}{H_{Ku}} \right)^{1/3} Pe^{2/3} \quad \text{Eq. 1-9}$$

H_{Ku} correspond au facteur hydrodynamique selon Kuwabara (1959) qui s'exprime selon la relation :

$$H_{Ku} = \alpha - 0,5 \ln \alpha - 0,25 \alpha^2 - 0,75 \quad \text{Eq. 1-10}$$

- **L'interception directe** : les petites particules suivent les lignes de courant lorsque celles-ci contournent les fibres. Une particule peut être interceptée par une fibre, si la distance entre son centre de gravité et la fibre est inférieure ou égale au rayon de cette dernière. Ce phénomène est indépendant de la vitesse. Plus la particule est grosse ou plus la fibre est fine, plus la probabilité d'interception est grande (Renoux & Boulaud, 1998). La capture par interception peut être caractérisée par le nombre d'interception I qui est le rapport entre le diamètre de la particule d_p et le diamètre de la fibre d_f :

$$I = \frac{d_p}{d_f} \quad \text{Eq. 1-11}$$

Comme pour le mécanisme de diffusion, de très nombreuses relations existent dans la littérature pour définir l'efficacité unitaire de capture par interception, η_i , (Thomas, 2001), dont celle de Lee et Liu (1982) :

$$\eta_i = 0,6 \cdot \left(\frac{1-\alpha}{H_{Ku}} \right) \cdot \left(\frac{I^2}{1+I} \right) \quad \text{Eq. 1-12}$$

- **L'impaction inertielle** : les grosses particules ne suivent pas les lignes de courant du fait de leur inertie. Elles viennent s'impacter à la surface des fibres et sont ainsi captées. Ce phénomène se présente souvent à des vitesses comprises entre 1,5 et 3 m/s et avec des particules ayant un diamètre supérieur à 1 μm (Renoux & Boulaud, 1998). La capture par impaction inertielle est caractérisée par le nombre de Stokes qui

correspond au rapport entre la distance d'arrêt de la particule et une longueur caractéristique de l'obstacle (d_f) :

$$S_i = \frac{Cu\rho_p d_p^2 U_0}{18\mu d_f} \quad \text{Eq. 1-13}$$

Comme pour les deux mécanismes précédents, il existe dans la littérature des expressions donnant l'efficacité unitaire de collecte η_i par impaction inertielle (Thomas, 2001) ; celle de Gougeon (1994) peut être citée :

$$\eta_i = 0,0334 \cdot St^{3/2} \quad \text{Eq. 1-14}$$

- **Le tamisage**: collecte des particules quand elles ont une taille supérieure ou égale à la dimension caractéristique des pores du média fibreux (Le Coq, 2006). Ce mécanisme est plus importante pour les grosses particules (diamètre > 1 μm) selon le média filtrant.

Les effets électrostatiques interviennent aussi dans la capture de particules lorsque celles-ci possèdent une charge électrique opposée à celle de la fibre collectrice. De manière générale les effets les plus influents sur l'efficacité globale du filtre sont la diffusion brownienne, l'interception directe et l'impaction inertielle.

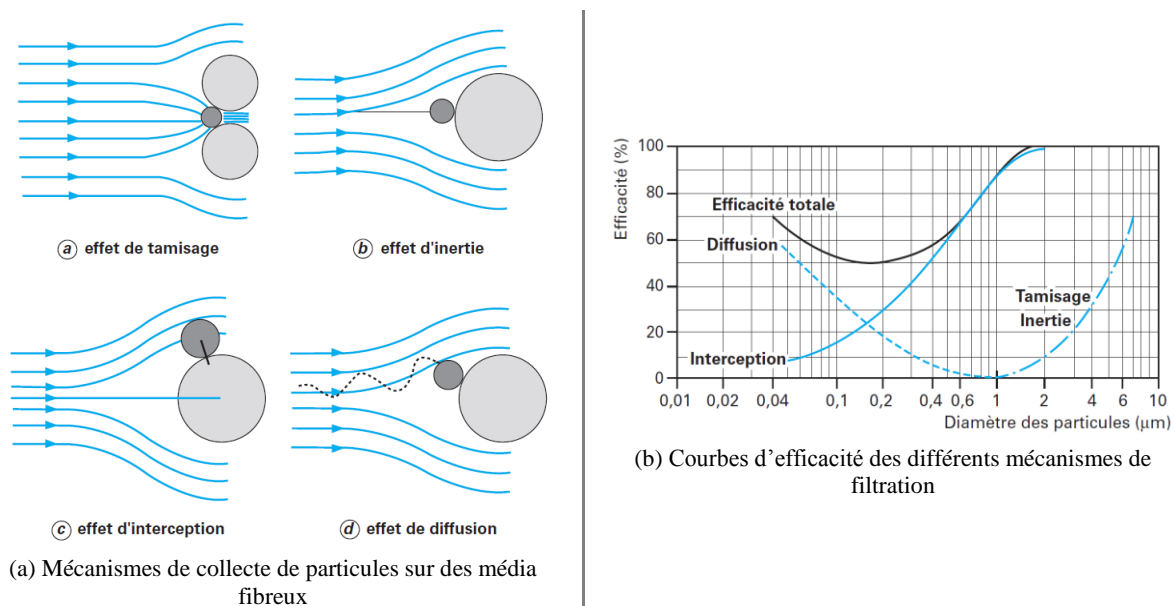


Figure 1-33. Mécanismes de collecte de particules sur des média fibreux et allures des courbes efficacité vs diamètre de particules (Techniques de l'Ingénieur - Bailly et al., 2001).

Dans la **Figure 1-33b**, il est possible de noter une valeur minimum d'efficacité totale autour de 0,2 μm . Cette valeur correspond au diamètre des particules les plus pénétrantes (MPPS en anglais Most Penetrating Particle Size).

Pour la capture de microorganismes, les mêmes mécanismes de collecte par diffusion, interception directe et impaction inertielle sont valables. Les spores fongiques entre 0,5 et 30 μm sont collectées par les filtres grossiers (Jankowska *et al.*, 2000). Dans la **Figure 1-34**, l'efficacité de filtration par rapport à la taille des bioaérosols est présentée. La courbe montre une chute de l'efficacité autour de 5 μm qui a été attribuée au rebond de particules et au relargage (Kuehn *et al.*, 1991).

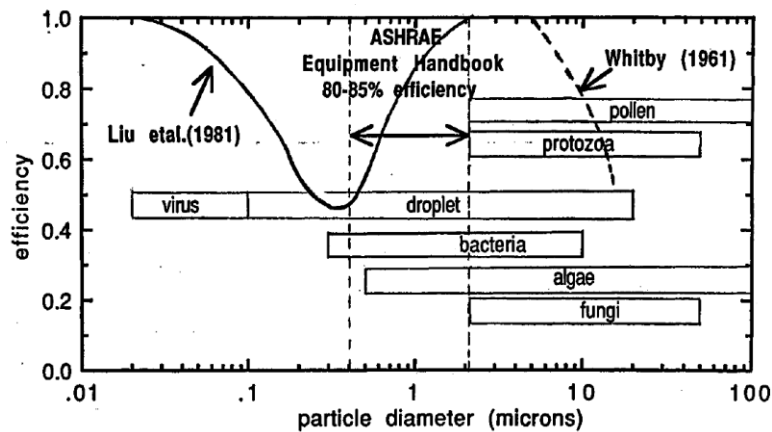


Figure 1-34. Efficacités de collecte de bioaérosols par rapport à leur taille (Kuehn *et al.*, 1991).

VI.1.3. Les média filtrants fibreux

Les matériaux constituant les fibres sont classiquement la cellulose, le verre, le quartz et l'acier inoxydable : ce sont les matériaux de base. Après, sont ajoutés des adjuvants (résines, liants acryliques) afin d'améliorer la tenue mécanique du média filtrant (Renoux & Boulaud, 1998). Les fibres peuvent être de nature différente :

- Des fibres organiques d'origine naturelle (fibres végétales, animales, protéiniques).
- Des fibres de cellulose régénérée.
- Des fibres synthétiques (fibres composées de polymères).
- Des fibres inorganiques (fibres minérales, fibres de verre, fibres métalliques, fibres de carbone).

Des matériaux synthétiques sont plus résistants aux oxydants, aux acides, aux bases et à la température et leurs propriétés sont mieux contrôlées. Les filtres en fibre de verre ont une capacité de rétention de particules plus grande que celle des filtres en cellulose (Poon et Liu, 1997) d'après (Del Fabro, 2001). Un paramètre important du média fibreux est la **porosité** ϵ définie comme le rapport du volume vide du filtre et le volume du filtre :

$$\varepsilon = \frac{V_{vide}}{V_{filtre}} = 1 - \frac{V_{fibres}}{V_{filtre}} = 1 - \alpha = \frac{\text{volume des pores}}{\text{volume total}} \quad \text{Eq. 1-15}$$

V_{vide} : Volume du vide du filtre

V_{fibre} : Volume des fibres

V_{filtre} : Volume du filtre

α : Compacité

VI.1.4. Performances des filtres

Il y a deux paramètres pour caractériser les performances de filtres : la perte de charge (ΔP) et l'efficacité (E). La perte de charge se définit comme la différence entre les pressions statiques en amont et en aval d'un filtre :

$$\Delta P = P_{amont} - P_{aval} \quad \text{Eq. 1-16}$$

La **perte de charge** produite par un matériau poreux traduit sa résistance à l'écoulement du fluide qui le traverse. Dans le cas d'un régime d'écoulement laminaire ou intermédiaire, cette perte de charge peut être exprimée en fonction de la vitesse frontale de l'air par une équation très générale du type (Reynolds, 1900) :

$$\Delta P = X \mu v + Y \rho v^2 \quad \text{Eq. 1-17}$$

Avec : X (m^{-1}) et Y (-) : coefficients de l'équation.

Selon cette expression, la perte de charge dans le milieu poreux est la somme d'un terme linéaire lié aux effets de la viscosité et d'un terme quadratique en raison de la dissipation d'énergie sous l'action des forces d'inertie (Carman, 1961). Le rapport e / X (avec e l'épaisseur du média) représente le coefficient de perméabilité du média B_0 . Les coefficients X et Y peuvent être exprimés en fonction des propriétés de structure du milieu considéré.

L'**efficacité** correspond à l'efficacité de collecte globale (le rapport entre le nombre de particules collectées et le nombre de particules le traversant), laquelle dépend de η , l'efficacité unitaire d'une fibre. L'efficacité d'un filtre peut s'exprimer en termes de rendement **RE** qui correspond au rapport entre la quantité d'aérosol retenue par le filtre et la quantité d'aérosols en amont. La perméance **PE** peut être aussi calculée comme le rapport de la quantité d'aérosol en aval et la quantité d'aérosol en amont. Enfin, le coefficient d'épuration **CE** qui correspond au rapport de la quantité d'aérosol en amont et la quantité d'aérosol en aval, peut être aussi calculé.

$$RE(\%) = \frac{A - a}{A} \cdot 100 \quad (Eq. 1-18)$$

$$PE(\%) = \frac{a}{A} \cdot 100 \quad (Eq. 1-19)$$

a : quantité d'aérosol en aval du filtre
A : quantité d'aérosol en amont du filtre

$$CE = \frac{A}{a} \quad (Eq. 1-20)$$

L'expression du rendement sera utilisée pour exprimer l'efficacité des filtres par la suite.

VI.1.5. Classification des filtres

En France, la norme AFNOR NF EN779 (2012) propose une classification des filtres par rapport à leur efficacité obtenue pour une perte de charge finale fixée. Les tests se font pour une poussière synthétique, pour une taille de filtres standard de 610 mm x 610 mm et un débit de 0.944 m³/s qui correspond à une vitesse de passage de 2,5 m/s. La classification des filtres HEPA et ULPA se fait en tenant compte de l'efficacité minimale correspondant à la taille de particules les plus pénétrantes ou MPPS. La poussière utilisée ne représente pas la poussière atmosphérique et elle est utilisée à une concentration 1000 fois plus grande que celle trouvée réellement (Gustavsson, 2010). Il existe une classification des filtres en fonction de leur efficacité : moyenne, haute et très haute efficacité (c.f. **Figure 1-35 et 1-36**).

La filtration se fait souvent en deux étapes. Un premier étage de filtration grossière pour l'élimination de grosses particules (Filtres G et F) et un deuxième étage de filtration fine pour l'élimination de petites particules (Filtres F, H et U). En particulier, les filtres F7 et F9 retiennent autour de 90% de particules de diamètre supérieur à 0,3 µm tandis que les filtres H13 en retiennent 99.97% (Araujo *et al.*, 2008).

Type de filtre	Appellation courante	Utilisation	Mécanismes de filtration	Vitesse de l'air à travers le média	Type de média filtrant	Applications	Commentaires
Moyenne efficacité G1 à G4	Ashrae gravimétrique	Préfiltre, filtre dégrossisseur	Inertie	1,5 à 2,5 m/s	Média épais en fibres de verre ou fibres synthétiques	<ul style="list-style-type: none"> • Confort • Bureau • Atelier classique... 	<ul style="list-style-type: none"> • Efficace pour les particules > 5 μm • L'efficacité chute avec la vitesse • Inefficace sur les aérosols atmosphériques • Leur utilisation devrait diminuer au profit du filtre opacimétrique (nouvelle réglementation)
Haute efficacité F5 à F9	Ashrae opacimétrique	Filtre fin	Interception et diffusion	0,05 à 0,15 m/s	<ul style="list-style-type: none"> • Feutre de fibres de verre en forme de poches • Papier plissé composé de fibres de verre 	<ul style="list-style-type: none"> • Bureaux • Industrie pharmaceutique • Micromécanique • Milieux hospitaliers • Salle d'ordinateurs... 	<ul style="list-style-type: none"> • Utilisé en protection de filtres absolus • La forme plissée procure une plus grande résistance dans un encombrement réduit • Devrait assurer le premier étage de filtration en centrale de traitement d'air
Très haute efficacité H10 à H14, U15 à U17	<ul style="list-style-type: none"> • Absolus • HEPA (<i>High Efficiency Particulate Air</i>) • ULPA (<i>Ultra Low Penetration Air</i>) 	Filtre finisseur	Diffusion et interception	< 0,03 ou 0,04 m/s	Fibres de verre extrêmement fines plissées	<ul style="list-style-type: none"> • Salles propres en écoulement laminaire • Blocs opératoires... 	La forme plissée procure une grande surface d'où une faible vitesse d'air

Figure I-35. Classification des filtres (Techniques de l'Ingénieur - Bailly et al., 2001).

Type de filtre (1)	Sur des particules de 1 μm			Sur des particules de 0,5 μm		
	Efficacité E (%)	Pénétration \mathcal{P} (%)	Coefficient d'épuration CE	Efficacité E (%)	Pénétration \mathcal{P} (%)	Coefficient d'épuration CE
90 % gravimétrique (G4)	10	90	1,1	5	95	1,05
50 % opacimétrique (F5)	30	70	1,4	10	90	1,1
65 % opacimétrique (F6)	45	55	1,8	25	75	1,3
85 % opacimétrique (F7)	85	15	6,6	70	30	3,3
95 % opacimétrique (F8/9)	95	5	20	90	10	10
95 % DOP (H11)	>> 99	<< 1	>> 100	98	2	50

(1) Se reporter aussi aux tableaux 1 et 2 de l'article [BE 9 271].

Figure I-36. Comparaison de l'efficacité de différents filtres (Techniques de l'Ingénieur - Bailly et al., 2001).

VI.1.6. Écoulement et pertes de charge dans un média fibreux

Le régime d'écoulement de l'air à travers un média fibreux peut être déterminé à partir du calcul du nombre adimensionnel de Reynolds qui correspond au rapport entre les forces inertielles et visqueuses. Il existe deux manières de caractériser l'écoulement en fonction de la porosité ε du média fibreux (Mauret et Renaud, 1997) :

- Pour $\varepsilon > 0,8$, il s'agit d'un écoulement au travers de canaux tortueux, et un nombre de Reynolds de pores peut être calculé selon la formule suivante :

$$Re_{pores} = \frac{\rho v}{(1 - \varepsilon_i) \mu S_f} \quad Eq. 1-21$$

- Pour $\varepsilon < 0,8$, il s'agit d'un écoulement autour d'objets isolés, dans ce cas les fibres, et un nombre de Reynolds de fibres peut être calculé selon la formule suivante :

$$Re_f = \frac{\rho d_f v}{\mu \varepsilon_i} \quad Eq. 1-22$$

Pour ρ correspondant à la masse volumique du fluide (kg/m^3), d_f au diamètre de fibres (m), v à la vitesse de l'écoulement (m/s), μ à la viscosité dynamique du fluide (Pa.s) et ε_i à la porosité inter-fibres (-). S_f (m^{-1}) équivaut à la surface spécifique des fibres qui correspond au rapport entre la surface externe d'une fibre et son volume, pour les fibres supposées cylindriques. Cette surface peut être déterminée à partir de la définition du diamètre hydraulique appliqué aux pores, selon l'équation suivante :

$$S_f = \frac{4}{d_f} = \frac{4\varepsilon_i}{(1 - \varepsilon_i)d_{pores}} \quad Eq. 1-23$$

Les valeurs limites du nombre de Reynolds permettant caractériser l'écoulement sont présentées dans le **Tableau 1-11**.

Tableau 1-11. Valeurs limites du nombre de Reynolds pour chaque régime d'écoulement

Régimes d'écoulement distingués			Références
Laminaire	Intermédiaire	Turbulent	
$Re_{pores} < 1-10$ (linéaire) $1-10 < Re_{pores} < 150-180$ (non-linéaire)	$150-180 < Re_{pores} < 900$	$Re_{pores} > 900$	Seguin <i>et al.</i> (1998) Comiti <i>et al.</i> (2000)
$Re_f < 0,2 - 1$	$0,2 - 1 < Re_f < 1000$	$Re_f > 1000$	Davies (1973) Dullien (1989) Renoux and Boulaud (1998)

VI.2. Comportement des microorganismes sur les filtres à air

Les particules cumulées sur les filtres peuvent être de nature inorganique, organique ou biologique. Les bactéries et les moisissures sont les microorganismes les plus rencontrés sur les filtres et dans une faible proportion les virus et les protozoaires (Kemp *et al.*, 1995 ; Goyal *et al.*, 2011). Quelques études ont été menées à l'échelle du laboratoire pour étudier les performances des filtres vis-à-vis des aérosols microbiens et le comportement de microorganismes une fois retenus sur les filtres, pour de conditions contrôlées notamment de température et d'humidité relative (Forthomme *et al.*, 2014 ; Pigeot-Remy *et al.*, 2014 ;

Bonnevie-Perrier, 2008 ; Farnsworth *et al.*, 2006 ; Maus *et al.*, 2001). Farnsworth *et al.* (2006), par exemple, ont construit un banc de filtration en cycle fermé dans lequel une génération de *Bacillus subtilis* est faite sur des filtres plissés à haute efficacité. Ils ont observé environ 97% d'efficacité de collecte.

Peu d'études ont été réalisées dans de conditions réelles (Möritz *et al.*, 2001 ; Kelkar *et al.*, 2005 ; Noris *et al.*, 2011). Par exemple, Möritz *et al.* (2001) ont suivi la capacité de rétention d'aérosols microbiens de deux CTA pendant 15 mois, appartenant à une bibliothèque et à un centre de conférences. Ils ont observé une efficacité d'élimination de bactéries d'environ 70% et supérieur à 80% pour les moisissures. Kelkar *et al.* (2005) ont suivi les systèmes de conditionnement d'air des blocs opératoires de 25 hôpitaux en Inde pendant 2 ans. Ils ont observé une colonisation de 26% de la surface des filtres par des champignons. Ahearn *et al.*, 2004, ont observé des hyphes entourant les fibres d'un filtre en coton-polyester à l'issu des premiers 30 jours de fonctionnement (c.f. **Figure 1-37**). La température et l'humidité sont les facteurs les plus influents identifiés par les différents auteurs, sur le développement de microorganismes sur les filtres.

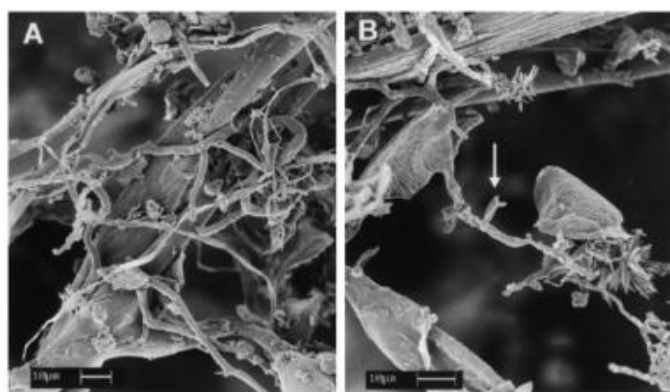


Figure 1-37. Présence d'hyphes sur un filtre en fibres de coton-polyester. A : magnification x700, B : magnification x900 (Ahearn *et al.*, 2004).

Ce qui pose des problèmes de développement microbien c'est la viabilité des microorganismes et leur capacité de former des structures dormantes, telles que les spores, capables de résister aux méthodes de contrôle typiques comme la chaleur et la dessiccation. Après, sous conditions appropriées, ces structures peuvent se développer, et peuvent éventuellement être transportées dans le système de ventilation (Kuehn *et al.*, 1991).

Concernant **la nature des filtres**, plusieurs auteurs ont observé la croissance microbienne sur les filtres des réseaux de ventilation. Kuehn et.al. (1991) ont étudié des médias filtrant en fibre de verre et en fibre polymériques. Les deux médias étaient des filtres à poches. Ils n'ont pas observé de croissance microbienne après une année de fonctionnement dans une installation réelle. Néanmoins, les particules collectées avaient des microorganismes viables des genres *Cladosporium*, *Alternaria* et *Penicillium*. Sous conditions contrôlées d'humidité à 90% et température de 21°C sous flux d'air en continu, les auteurs ont contaminé les filtres avec des spores de *Cladosporium* et *Flavobacterium lutescens* et après une année de fonctionnement, ils n'ont pas observé de croissance microbienne. Finalement, après contamination avec des nutriments, la croissance a rapidement été évidente sur les deux types de médias filtrants. Kemp et.al. (2001) ont aussi observé la croissance microbienne sur des filtres en fibres de verre et en fibres polymériques. Ils ont remarqué le développement fongique sur les filtres en fibres de verre mais pas sur les filtres polymériques. Ils ont formulé l'hypothèse que ce matériau pourrait être un substrat fonctionnel.

Forthomme *et al.* (2014) ont également étudié un média en fibres de verre et un média en fibres de polypropylène, contaminés par des bactéries et spores fongiques de *S. epidermidis* et *P. oxalicum*, respectivement. Une fois contaminés, les filtres ont été disposés dans une enceinte hermétique à une humidité relative proche de 100% pendant 48 et 168 h. Les auteurs ont observé une croissance significativement supérieure de spores fongiques sur le média en fibre de verre, par rapport à l'autre filtre, quelque soit le temps de conditionnement. Les auteurs attribuent cette observation, au fait que les filtres en fibres de verre ont une capacité de rétention d'eau plus importante. De la même manière, la teneur en eau des filtres et la disponibilité de cette eau ont été rapportés comme paramètres influents sur la croissance microbienne (Burge, 1995). Kemp *et al.* (2001) assurent que le contenu d'humidité de média en fibre de verre est élevé par rapport à celui mesuré pour des médias polymères, donc les espèces bactériennes et fongiques ont plus de chance de survivre sur ce type de médias.

Kemp et.al. (1995) ont publié les résultats d'une année d'essais sur un banc de filtration en cycle fermé à une température de 21°C et humidité relative de 90%. Ils ont trouvé que fonctionner en cycle fermé n'a pas permis une charge significative sur les filtres et ils ont implémenté un deuxième test avec des nutriments afin de trouver le niveau minimum nécessaire pour commencer la croissance sur les filtres. L'étude a révélé une croissance microbienne sur la partie supérieure des filtres en fibre de verre. Après l'ajout de nutriments, les auteurs ont observé une croissance significative et la croissance microbienne a été

observée dans la partie supérieure et inférieure du filtre et des hyphes ont été observés autour des fibres de verre.

Dans une étude au sud-est des Etats-Unis, Ahearn et.al. (2004) ont trouvé une concentration élevée de l'espèce *Aspergillus flavus* dans des CTA de milieux hospitaliers. Le cadre des filtres a montré visuellement le développement microbien en premier, puis les filtres en fibre de cellulose et en dernier les fibres en polyester. Sur les médias fibreux en coton, la présence de moisissures a été observée sous conditions humides. La colonisation a été observée sur les filtres en fibres de polyester et sur les filtres HEPA en microfibre de verre contenant des particules organiques. Le développement microbien a été observé pour différents matériaux de filtres lorsqu'ils sont sous conditions favorables d'humidité et température.

Concernant ***l'humidité et la température***, l'humidité est considérée comme le facteur clé pour la croissance microbienne. Une température comprise entre 22 °C et 32 °C et une humidité entre 40% et 90% ont été établies comme conditions optimales pour la croissance microbienne (Li et al., 2010). Forthomme et al. (2014) ont également étudié l'influence de l'humidité relative pour de filtres en fibres de verre contaminés par un consortium microbien (*S. epidermidis* et *P. oxalicum*). Ils ont observé une croissance significative de *P. oxalicum* à une humidité relative proche de 100%, ce qui n'a pas été le cas à 60 et 80%. Aucune croissance bactérienne a été observé quelque soit la valeur d'humidité relative étudiée. D'autres auteurs n'ont pas observé une influence significative de l'humidité relative sur l'activité des spores de *Bacillus subtilis* (Maus et al., 2001). Ils ont contaminé des filtres de type industriel neufs au laboratoire ainsi que des filtres usagés en fibres de verre et en fibres de polyester, par filtration d'air extérieur. Aucune influence significative de l'humidité étudiée, entre 20% et 98%, n'a été observée. Ils ont aussi observé un comportement de spores d'*Aspergillus niger* invariable pour des humidités relatives au-dessous de 35%.

De plus, ils ont observé qu'à humidités relatives supérieures à 85%, la viabilité des spores d'*A. niger*, diminuait. Les auteurs formulent l'hypothèse d'une réhydratation des spores et d'une diffusion de substances toxiques provenant des fibres. Möritz et.al (2001) ont trouvé un relargage microbien des filtres F6 et F7 pour des valeurs d'humidité relative supérieures à 80% et une température inférieure à 12°C pendant de longues périodes. Ils ont observé que cette fraction relargée correspond à des particules plus petites que 1,1 µm.

La **poussière collectée** semble aussi être un paramètre important pour la croissance microbienne sur les fibres car elle peut servir d'abri et de protection à la dessiccation (Li *et al.*, 2010). Elle peut aussi servir de support pour l'adsorption de matière organique qui pourra ensuite servir d'éléments nutritifs aux aérosols microbiens. Les hyphes peuvent pénétrer le média et une libération de spores est tout à fait possible (Kuehn *et al.*, 1991). Maus *et al.* (2001) ont analysés des filtres usagés à différents niveaux de colmatage avec de la poussière atmosphérique, et ils ont trouvé que sous conditions favorables d'humidité, il n'y a pas eu multiplication de *Bacillus subtilis*. Les auteurs attribuent ce fait au manque de nutriments disponibles pour la souche.

Le **vieillessement du filtre** a été aussi étudié en relation à la croissance microbienne. L'efficacité de collecte des bactéries par un filtre HEPA après 13000 heures de fonctionnement a été trouvée identique à celle d'un filtre neuf. Pour les filtres d'efficacité moyenne, il y a une augmentation de l'efficacité après deux années de fonctionnement (Kuehn *et al.*, 1991).

L'exposition à un débit d'air, ou en autres termes, la vitesse de filtration a été aussi étudiée. Maus *et al.* (2001) ont observé que la viabilité des spores *Bacillus subtilis* sur des filtres de type industriel, restait invariable lorsqu'ils étaient soumis à un flux d'air. Cette observation a été expliquée par la résistance de la souche à la radiation, la dessiccation et à la chaleur. Ils ont aussi observé un développement fongique d'*A.niger*, à des valeurs d'humidité supérieures à 70% et en absence d'un débit d'air sur les filtres. Ils ont remarqué une production abondante de spores et relargage vers l'air traité. Jankowska *et al.* (2000) ont comparé l'efficacité de collecte des filtres F5 et F8 pour des spores fongiques et des particules de KCl de la même taille à une vitesse typique de filtration de 2,5 m/s. L'efficacité s'est révélée plus faible pour les spores fongiques. Ils ont aussi observé le relargage à une vitesse de 3 m/s : entre 2 et 12% des spores fongiques ont été entraînées par rapport à 0.2-0.6% de particules. Forthomme *et al.* (2014) ont également étudié l'influence de la présence d'un débit d'air pendant 8 h sur le développement microbien sur les filtres juste après la contamination de ceux-ci par un consortium microbien. Ils ont comparé la concentration de microorganismes par rapport à un filtre n'ayant pas subi ce flux d'air. Ils ont observé que la présence d'air n'a aucune influence sur le comportement de microorganismes, puisque ils observent les mêmes tendances : *P. oxalicum* se développe tandis que *S. epidermidis* ne croît pas, après une période de 168 h de conditionnement dans une atmosphère contrôlée.

L'influence des périodes d'arrêt sur le développement de microorganismes a aussi été observée dans les CTA. Pendant les périodes où le système est éteint, la concentration de bactéries a été mesurée de 865 UFC/m^3 dans la chambre de mélange et pour les moisissures de 3880 UFC/m^3 dans les tours de réfrigération. Ces valeurs correspondent à une augmentation de plus de 300% par rapport aux autres modes de fonctionnement (Chow *et al.*, 2005). Ils ont identifié les souches prédominantes dans les CTA étudiées : plus de 86% des bactéries étaient Gram-positives et les genres les plus dominants étaient *Micrococcus*, *Staphylococcus* et *Bacillus*. Les moisissures les plus dominantes étaient *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium* et *Fusarium*. Il est possible d'identifier que la communauté microbienne ne diffère pas beaucoup de celle trouvée dans l'air intérieur.

Möriz *et al.* (2001) ont étudié le relargage. Ils ont fait la comparaison de la concentration de bactéries et moisissures rencontrées en amont et en aval des filtres de deux CTA. Les résultats sont présentés dans la **Figure 1-38**, pour une des CTA étudiées située dans une librairie. Cette CTA fonctionne avec deux étages de filtration, tout air neuf. Pendant les nuits et les week-ends, elle fonctionne à 25% de son débit normal. Les valeurs négatives du rapport amont/aval des filtres sur l'échelle droite des graphiques, indiquent le relargage de microorganismes vers l'air intérieur.

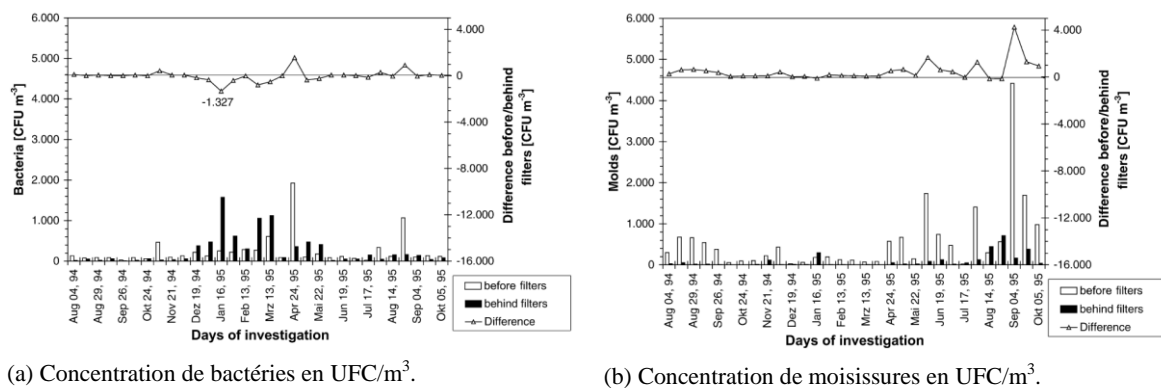


Figure 1-38. Concentrations de bactéries et de moisissures rencontrées dans une CTA, (Möriz *et al.*, 2001).

D'autres paramètres ont été aussi étudiés comme **le pH**, en sachant que pour les moisissures le pH optimal est autour de 5,5 ou en tout cas inférieur à 7, tandis que pour les bactéries un pH neutre est approprié (Burge, 1995). Le pH des filtres en fibres polymériques se situe autour de 8,5 ce qui est une ambiance hostile pour les moisissures (Kemp *et al.*, 2001).

Enfin, quelques préconisations ont été faites dans la littérature pour éviter le développement microbien et la dégradation de l'air intérieur :

- Pour éviter les valeurs d'humidité relative au-dessus de 90%, certains auteurs préconisent un préchauffage avant l'étape de filtration (Möritz *et al.*, 2001).
- L'utilisation de « scrubbers »¹⁷ n'est pas recommandée pour éliminer les bactéries dans les ambiances critiques comme les milieux hospitaliers. Si c'est le cas, il est recommandé d'utiliser des filtres de haute et très haute efficacité en aval (Kuehn *et al.*, 1991).
- Sachant que les filtres à très haute efficacité sont efficaces pour la rétention de microorganismes, si la concentration de ceux-ci est très élevée (de millions d'organismes par unité de volume), un processus d'incinération ou de radiation ultraviolette est recommandé (Decker *et al.*, 1963). En plus, ces auteurs préconisent d'avoir un facteur de sécurité lorsque le traitement est fait en milieux critiques.

VII. Conclusion du chapitre

Dans ce rapport bibliographique, les définitions et généralités des aérosols dont les aérosols microbiens ont été présentées, ainsi que la synthèse de quelques études concernant la qualité microbiologique de l'air extérieur urbain et dans les environnements intérieurs. De même, une revue bibliographique a été réalisée par rapport aux techniques de génération, d'échantillonnage et de caractérisation/quantification des aérosols. Enfin, un résumé a été exposé concernant la théorie de filtration, les systèmes de ventilation et la problématique associée à la présence des aérosols microbiens dans ces systèmes.

Pour récapituler, il est important de remarquer que les aérosols microbiens peuvent être définis comme des particules aéroportées « vivantes » formées par des bactéries, des champignons ou « fungi » et des fragments microbiens. Il faut savoir que les cellules bactériennes sont rarement isolées dans l'air et qu'elles ont tendance à s'associer avec les particules offrant une protection contre la lumière et la dessiccation et pourtant il est très probable de les trouver dans l'air en fonction des caractéristiques de l'endroit des mesures (air intérieur, extérieur, zones urbaines, rurales, etc.).

¹⁷ Le terme anglais « scrubber » fait référence à un processus d'absorption ou de lavage de l'air pour l'élimination de polluants.

Les formes sporulées des bactéries et champignons sont des formes de résistance à la chaleur, au manque d'eau ou de nutriments, à la dessiccation, etc. Il est possible donc, d'imaginer que les espèces bactériennes ou fongiques qui développent ces formes, et particulièrement les champignons formant des hyphes, peuvent être trouvées dans les systèmes de ventilation spécialement sur les filtres dans le « gâteau » des particules où ils peuvent trouver les nutriments, comme il a été déjà reporté dans la littérature. Ces aérosols microbiens peuvent être à l'origine d'effets sur la santé comme exposé dans cette revue bibliographique. Les spores fongiques par exemple, ont été utilisées comme indicateur de la pollution atmosphérique biologique pour leur effet allergique chez les humains.

Il a également été présenté dans ce rapport les souches bactériennes et fongiques les plus fréquemment retrouvées dans l'air extérieur et intérieur : les genres bactériens *Bacillus* et *Staphylococcus* et les genres fongiques *Penicillium* et *Aspergillus*. En effet, les souches *Bacillus subtilis* et *Aspergillus niger* ont été sélectionnées pour l'étude expérimentale à l'échelle du laboratoire comme il sera présenté dans le **Chapitre 2** (c.f. Chapitre 2.III.3).

Concernant la qualité de l'air tant extérieur qu'intérieur, elle varie énormément en termes de concentration, de distribution granulométrique, composition chimique et composition biologique. Par exemple, les souches rencontrées varient en fonction des saisons, la variation jour/nuit et les conditions climatiques qui sont des facteurs connus pour influencer la qualité microbiologique de l'air. Les zones rurales présentent une qualité microbiologique différente de celle des zones urbaines et encore, dans ce groupe, les zones influencées par le trafic routier présentent une qualité de l'air caractéristique. Le trafic routier et la présence des véhicules fonctionnant avec un moteur diesel ont été identifiés comme la source majeure de particules PM10 dans les zones urbaines.

Il est important de remarquer que la qualité de l'air extérieur a une influence significative sur la qualité de l'air intérieur. Une mauvaise qualité de l'air intérieur peut être à l'origine d'effets sur la santé, tels que les allergies, fatigue et irritations des yeux et des voies respiratoires. La qualité de l'air intérieur peut être dégradée à cause d'une mauvaise ventilation, des problèmes d'humidité ou encore d'un mauvais nettoyage. L'humidité semble être un facteur clé notamment pour une raison de réactivité des polluants.

Dans les CTA, la présence des microorganismes a été reportée. Par exemple, la croissance sur des filtres à poches en fibres de verre et en fibres polymériques, a été observée en présence de

nutriments à 90% d'humidité relative. Notamment, la croissance fongique via les hyphes que les champignons forment, a été observée autour des fibres des filtres. L'humidité relative a été reportée comme le facteur principal dans les CTA influent sur la colonisation des filtres.

Les éléments ici présentés, constitueront le support scientifique et technique pour mener les étapes expérimentales de ce projet. En conséquence, ce rapport a permis de choisir la composition de l'aérosol particulaire, les souches microbiologiques à étudier, ainsi que les techniques de génération, collecte et caractérisation utilisées dans cette thèse, qui seront décrites dans le chapitre suivant.

Chapitre 2. Matériels et méthodes

I. Introduction

Les éléments présentés dans le premier chapitre constituent le support scientifique et technique pour mener les étapes expérimentales de ces travaux de thèse. Deux campagnes expérimentales ont été réalisées dans le cadre de cette thèse : une à l'échelle laboratoire et l'autre à pleine échelle. Premièrement, les performances de filtres prototypes ayant des géométries industrielles (plissés, à poches) ont été étudiées à l'échelle du laboratoire. Ces filtres prototypes ont été colmatés dans un banc d'essais développé dans le cadre de cette thèse qui sera présenté dans le **Chapitre 3**, nommé **mini CTA** (c.f. Chapitre 3.II). Des aérosols dits « modèles », de type PM10, composé d'aérosols inorganiques, organiques et microbiens ont été utilisés pour constituer un gâteau mixte de particules pendant le colmatage des filtres dans des conditions contrôlées et maîtrisées. L'étude à l'échelle laboratoire a pour objectif principal d'étudier le comportement des aérosols microbiens sur les filtres après des périodes d'arrêt.

Dans un deuxième temps, un suivi des paramètres climatiques, notamment de l'humidité relative (HR) et de la température (T), ainsi que l'étude des performances des filtres de deux CTA à pleine échelle ont été menés. De même, le comportement des aérosols microbiens sur ces filtres colmatés avec un aérosol urbain a été étudié. Les résultats seront présentés dans le **Chapitre 4**.

Dans ce chapitre, les médias fibreux qui ont été considérés dans le cadre de cette thèse sont caractérisés. Ces médias seront étudiés tant à l'échelle laboratoire comme à pleine échelle. Ensuite, la composition de l'aérosol particulaire « modèle » (particules d' Al_2O_3 et de riz micronisé) et les souches microbiennes sélectionnées pour les expériences sur la mini CTA sont présentées. Les protocoles expérimentaux utilisés pendant les essais en laboratoire, concernant les techniques de génération, collecte et caractérisation d'aérosols seront exposés. Enfin, des essais préliminaires de colmatage de filtres plans et de vérification de la survie de microorganismes ont été réalisés afin de valider les protocoles expérimentaux.

II. Caractérisation des médias fibreux filtrants utilisés dans cette étude

II.1. Présentation des filtres - Classification

La classification des médias filtrants est basée généralement sur leur structure poreuse. Ainsi, plusieurs types de médias sont décrits dans la littérature, à savoir les milieux granulaires non consolidés (comme les lits ou les colonnes de sable), les milieux poreux consolidés (comme les frittés céramiques) et les médias fibreux (Le Coq, 2006). Les médias fibreux filtrants sont souvent utilisés dans les CTA pour l'élimination de particules. Une grande variété de ces médias sont disponibles commercialement.

Pour l'ensemble des travaux expérimentaux, 3 médias fibreux filtrants commerciaux ont été étudiés. Un filtre d'efficacité moyenne classé G4 et deux filtres de haute efficacité classés F7 et F9 selon la norme EN 779 (2002) ont été utilisés au laboratoire, pour les essais avec la **mini CTA**. Les filtres G4 et F7 ont été également étudiés à pleine échelle pendant le suivi de deux CTA réelles, comme présenté dans le **Chapitre 4**. Ces types de filtres ont été choisis du fait de leur utilisation courante dans les CTA des bâtiments tertiaires. Ils sont présentés sur la **Figure 2-1**.



(a) Filtre plan plissé - G4
Etudié à l'échelle laboratoire et à pleine échelle



(b) Filtre à poches - F7
Etudié à l'échelle laboratoire et à pleine échelle



(c) Filtre à poches - F9
Etudié à l'échelle laboratoire

Figure 2-1. Médias filtrants commerciaux étudiés dans le cadre de ces travaux

Le filtre G4 est un média plan plissé cousu sur une grille métallique. Il s'agit d'un filtre grossier qui joue le rôle de pré-filtre dans les CTA où il y a plus d'un étage de filtration. Les

filtres F7 et F9 sont des filtres fins, situés souvent en deuxième étage de filtration. Quelques caractéristiques de ces filtres sont présentées dans le **Tableau 2-1**.

Tableau 2-1. Caractéristiques des medias filtrants commerciaux étudiés (données constructeur)

	G4	F7	F9
Type	Filtre gravimétrique à grand débit d'air	Filtre haute efficacité	Filtre haute efficacité
Cadre	Acier galvanisé	Tôle galvanisée	Tôle galvanisée
Média	Coton + fibre polyester avec grille en cuivre	Feutre fibre de verre	Feutre fibre de verre
ΔP nominale	60 Pa	125 Pa	130 Pa
ΔP finale recommandée	250 Pa	450 Pa (économique 250 Pa)	450 Pa (économique 250 Pa)
Rendement gravimétrique moyen A_m	$A_m \geq 90\%$		
Efficacité moyenne pour les particules de $0,4 \mu m$ (E_m)	-	$80\% \leq E_m \leq 90\%$	$E_m \geq 95\%$
Débit nominal	3400 m ³ /h	3400 m ³ /h	3400 m ³ /h
Débit d'air maximum	1,3 x débit nominal	1,25 x débit nominal	1,25 x débit nominal
Température	70°C maximum en service continu	90°C maximum en service continu	90°C maximum en service continu
Dimensions (LxHxP)*	592 x 592 x 50 mm	592 x 592 x 380 mm	592 x 592 x 635 mm
Surface média	1 m ²	5,4 m ²	9,1 m ²

*L : longueur, H : hauteur, P : profondeur

A l'échelle laboratoire, des filtres prototypes d'efficacité G4 ont été fabriqués à partir de filtres commerciaux par l'équipe technique du laboratoire, comme présenté sur la **Figure 2-2a**. Les filtres à poches prototypes d'efficacité F7 et F9 ont été fournis par le fabricant. Ces filtres ont été fabriqués à partir des mêmes médias utilisés pour la fabrication des filtres industriels mais ne comportent que deux poches. Les **Figure 2-3a** et **Figure 2-4a** présentent les filtres prototypes F7 et F9 respectivement. La surface de filtration développée par le filtre prototype G4 est de $615 \pm 109 \text{ cm}^2$. Pour les filtres à poches prototypes F7 et F9, la surface développée est approximativement 5 fois plus importante, à savoir $3500 \pm 500 \text{ cm}^2$. Ces valeurs ont été estimées à partir de mesures expérimentales de leurs dimensions caractéristiques. L'incertitude associée équivaut à l'incertitude élargie de la mesure.

D'autre part, des observations par microscopie électronique à balayage (MEB) des fibres vierges ont été réalisées à l'aide de l'appareil JEOL 5800-LV. Avant l'observation au microscope, les échantillons ont été dégazés sous vide et métallisés par dépôt d'une couche

d'or-palladium. Les images obtenues par MEB sont présentées sur les **Figure 2-2b**, **Figure 2-3b** et **Figure 2-4b** pour les filtres G4, F7 et F9 respectivement.

Les observations à l'aide du MEB montrent la présence de particules ou impuretés sur les fibres vierges du filtre G4. Cette « charge » de particules équivaut à une charge « initiale » qui s'est probablement déposée lors de la fabrication, du transport ou du stockage des filtres, malgré les précautions prises. Les fibres du filtre F7, plus fines que celles du G4, semblent ne pas être chargées de particules, mais il est observé des éléments sphériques qui peuvent probablement correspondre aux liants utilisés lors de la fabrication du filtre. Le filtre F9 présente également des fibres fines. Ni les éléments sphériques ni des particules ne sont observés sur les fibres. La taille des fibres sera étudiée plus en détails plus loin dans ce chapitre.

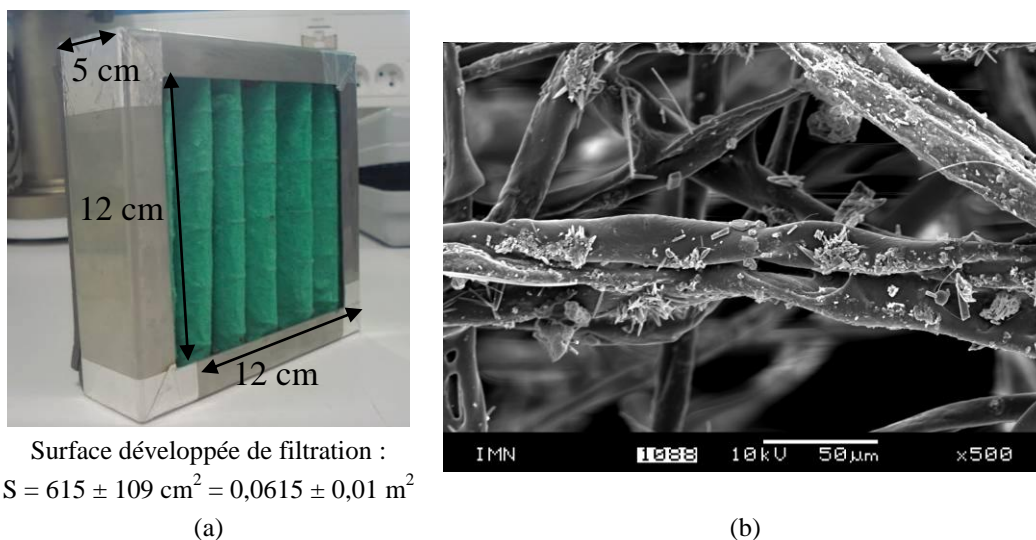


Figure 2-2. Photographie d'un filtre prototype G4 et observation des fibres au MEB.

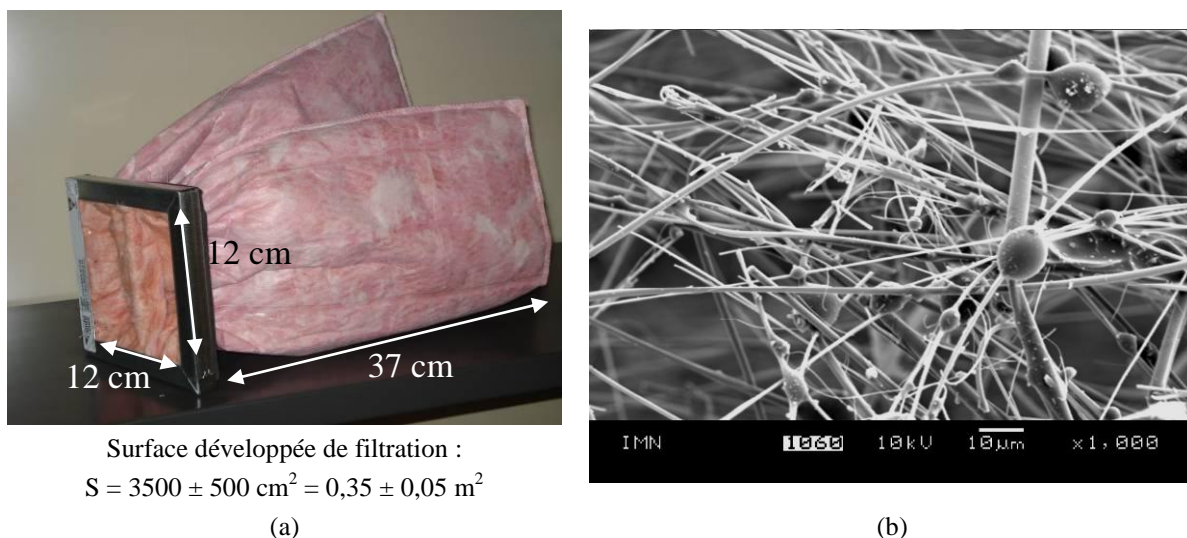


Figure 2-3. Photographie d'un filtre prototype F7 et observation des fibres au MEB.

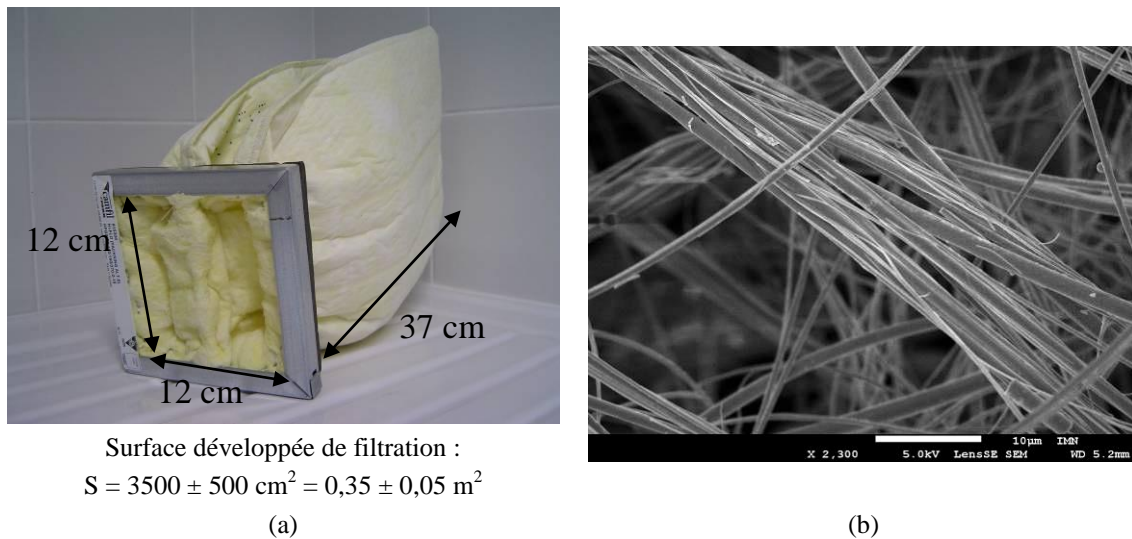


Figure 2-4. Photographie d'un filtre prototype F9 et observation des fibres au MEB.

II.2. Propriétés de structure et de contexture

II.2.1. Épaisseur et grammage des médias

L'épaisseur des médias (e) a été mesurée à l'aide d'un micromètre à touche plane manuel et d'un pied à coulisse. En raison de la compressibilité des médias, il a été nécessaire d'appliquer le moins de pression possible pendant les mesures. La valeur moyenne trouvée pour chaque média est présentée sur la **Figure 2-5**, ainsi que le nombre d'échantillons mesurés n . Les barres d'incertitude correspondent à l'écart type sur les mesures. Il est possible d'observer que les médias filtrants F7 et F9 à poches présentent une épaisseur plus importante que celle du média G4. Les médias F7 et F9 sont des médias multicouches très aérés. Le média G4 est également très aéré, mais il s'agit d'un média monocouche.

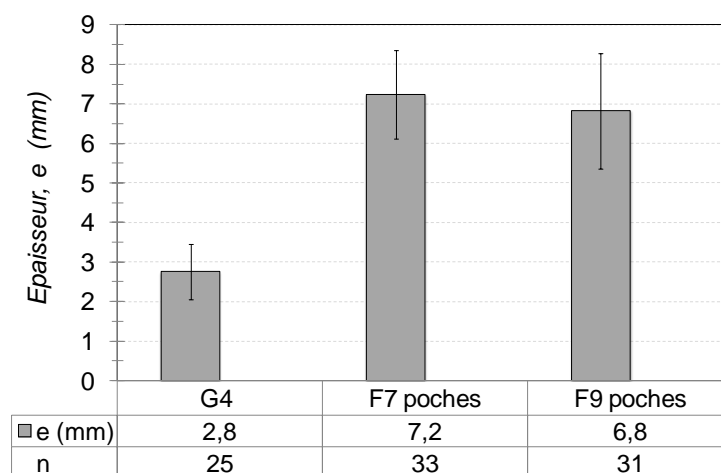


Figure 2-5. Épaisseur des médias mesurée expérimentalement.

Le grammage a été déterminé par pesées de 5 échantillons de chaque média. Les échantillons ont été séchés à 70°C pendant plusieurs jours (au moins 1 semaine). Le grammage des filtres est de 65 ± 5 , 75 ± 10 et 80 ± 3 g/m² pour les médias correspondant aux filtres G4, F7 et F9 respectivement. Les incertitudes correspondent aux valeurs maximales et minimales mesurées. Il est important de noter que pour le média G4 le fil métallique n'a pas été pris en compte. Les médias F7 et F9 présentent donc un grammage plus important par rapport à celui du média G4.

II.2.2. Porosité des médias

Comme présenté dans le **Chapitre 1**, la porosité (ε) des médias filtrants se définit comme le rapport entre le volume de pores dans un échantillon et le volume total :

$$\varepsilon = \frac{\text{volume des pores}}{\text{volume total}} \times 100 \quad \text{Eq. 2-1}$$

Pour caractériser la structure poreuse inter-fibres d'un média fibreux, il existe plusieurs méthodes, parmi lesquelles se trouve la porosimétrie au mercure. Cette technique procure des informations sur la porosité et sur la distribution poreuse inter-fibres, c'est-à-dire, sur la répartition en taille des pores du média à l'échelle inter-fibres du matériau.

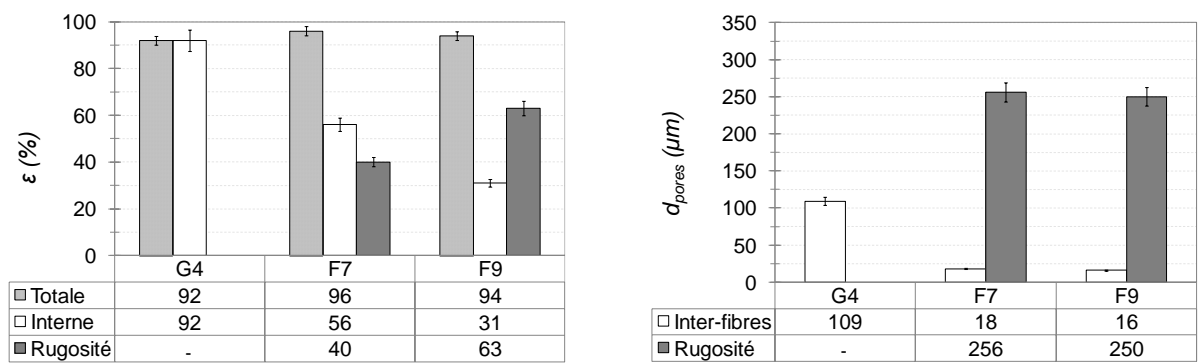
Cette technique repose sur la mesure de la pénétration d'un liquide non mouillant et non réactif, comme l'est le mercure, dans les pores du média du fait de la pression exercée sur le liquide (intrusion de mercure). Le remplissage des pores dépend de la forme et de la complexité du réseau des pores. La relation entre le diamètre hydraulique de pore pénétré d_{pores} , et la pression P exercée sur le liquide de mercure, obéit à la théorie de Washburn (1921):

$$d_{pores} = \frac{-4\gamma \cos \theta}{P} \quad \text{Eq. 2-2}$$

Où γ (N/m) correspond à la tension superficielle du liquide avec l'air et θ (°) correspond à l'angle de mouillage du liquide avec le matériau analysé. Dans le cas du mercure, la valeur de γ retenue pour cette étude est de 0,485 N/m (Van Brakel *et al.*, 1981). La valeur de l'angle de contact θ retenue pour les filtres G4 est de 140° qui équivaut à une valeur moyenne de θ du mercure avec plusieurs matériaux (Baiker *et al.*, 1982). Bonnevie-Perrier (2008) confirme l'utilisation de cette valeur du fait de la composition mal définie des fibres des médias G4. Pour les filtres F7 et F9, la valeur de θ retenue est de 153° qui est une valeur reportée dans la littérature pour l'interface des matériaux verre-mercure (Le Coq, 2008).

Les masses d'échantillons étudiées sont comprises entre 0,02 et 0,05 g. Les échantillons ont été préalablement séchés à 100°C pendant 1 nuit. Les mesures ont été réalisées à l'aide d'un appareil Micromeritics Autopore IV 9500. La gamme de diamètre de pores étudiée s'étend de 1 à 1000 μm . Pour chaque média, un minimum de 3 essais de reproductibilité a été effectué. Les courbes de distribution du volume poreux des médias sont présentées dans l'**Annexe 1**.

Pour les médias filtrants fibreux, deux types de taille de pores peuvent être identifiés, celui qui correspond à la rugosité en surface et celui qui correspond à la porosité interne inter-fibres. La porosité et les diamètres modaux obtenus sont présentés sur la **Figure 2-6**.



(a) Porosité totale, interne et due à la rugosité de surface. (b) Diamètre modaux des pores correspondant à la porosité inter-fibres et à la rugosité de surface.

Figure 2-6. Caractéristiques de la structure poreuse des filtres, porosité et diamètre modal des pores, obtenues par porosimétrie au mercure.

Concernant le filtre **G4**, la porosité totale mesurée est de 92% et elle correspond également à la porosité interne du média. En effet, d'après l'interprétation des courbes de porosité en fonction du diamètre des pores, présentées dans l'**Annexe 1**, les deux porosités sont interpénétrées et la porosité due à la rugosité en surface représente probablement un volume non quantifiable.

II.2.3. Diamètre des fibres

Le diamètre des fibres d_f des médias filtrants a été déterminé à partir des résultats de porosimétrie au mercure. Comme présenté dans le **Chapitre 1**, l'équation suivante permet l'estimation du diamètre équivalent des fibres, en fonction de la porosité et du diamètre hydraulique de pores :

$$S_f = \frac{4}{d_f} = \frac{4\varepsilon_i}{(1-\varepsilon_i)d_{pores}} \quad \text{Eq. 2-3}$$

Avec ε_i correspondant à la porosité inter-fibres (-). S_f (m^{-1}) équivaut à la surface spécifique des fibres qui correspond au rapport entre la surface externe d'une fibre et son volume.

La porosité interne et le diamètre modal correspondant à celle-ci ont été utilisés pour la détermination du diamètre des fibres. Pour les médias G4, F7 et F9, un diamètre de fibres de 11 ± 2 , $1 \pm 0,2$ et $0,5 \pm 0,2$ respectivement, a été déterminé. Ces valeurs correspondent à une valeur moyenne sur les 3 essais. Il est intéressant de noter que le média G4 présente des fibres de diamètre aéraulique équivalent presque 10 fois plus important que celui des filtres F7 et F9.

Le diamètre optique des fibres a été également mesuré à partir des observations au MEB à l'aide du logiciel Visiomètre, pour les filtres G4 et F7. Pour le média G4, 70 fibres ont été analysées à partir de 4 échantillons de média. Pour le média F7, 50 fibres, sur 3 échantillons, ont été considérées pour la mesure de leur diamètre. Pour le média F9, 30 fibres ont été mesurées. Un diagramme de distribution différentielle des effectifs en fonction du diamètre mesuré est présenté sur la **Figure 2-7**, pour les médias G4 et F7 puisqu'il a été mesuré un nombre de fibres plus important permettant de construire cette distribution.

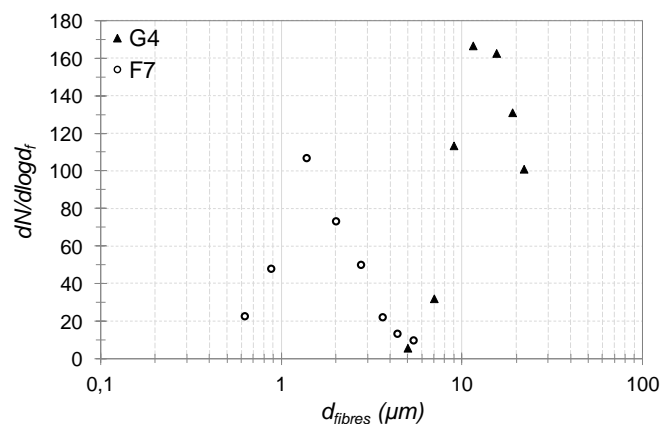


Figure 2-7. Distribution différentielle des effectifs en fonction du diamètre de fibres mesuré par observation au MEB pour les médias G4 et F7.

Pour le média G4, un diamètre modal entre 10 et 15 μm a été observé, tandis que pour le média F7, un diamètre modal entre 1 et 2 μm est observé. Le diamètre médian est de 13 et 1,5 μm pour le média G4 et F7 respectivement.

Pour les médias G4 et F7, le diamètre aéraulique équivalent de fibres et le diamètre optique médian calculé à partir des observations au MEB sont relativement comparables. Il est

important de noter que les fibres pour la mesure au MEB ont été sélectionnées au hasard tout en essayant de prendre en compte la surface entière de l'échantillon. Pour les filtres à poches, F7 et F9, en raison de l'épaisseur du média, seule la couche supérieure (celle qui est en amont lors de la filtration de particules) a été considérée. Il serait intéressant donc, pour une caractérisation plus fine des fibres, de réaliser des mesures de diamètre pour les différentes couches composant les médias filtrants.

II.2.4. Perméabilité à l'air des filtres vierges

La perméabilité a été déterminée à partir de l'évolution de la perte de charge générée par les filtres prototypes (ΔP en Pa) en fonction de la vitesse du fluide le traversant. Ces mesures ont été réalisées à pression atmosphérique dans la mini CTA, pour chaque filtre prototype étudié. Les mesures de perméabilité ont été réalisées pour des vitesses frontales v d'air comprises entre 0,2 et 3 m/s (débit $Q = 10 - 160 \text{ m}^3/\text{h}$). Cette gamme de débit étudiée obéit au fait que le débit nominal dans la CTA, pour obtenir des vitesses de filtration v_f nominales conseillées par le fabricant, est fixé à $140 \text{ m}^3/\text{h}$. Donc il a été décidé de prendre en compte les débits plus faibles et légèrement supérieurs (15%) au débit nominal. Ceci afin d'éviter d'endommager l'intégrité des médias ou de produire un relargage des fibres. Les conditions d'humidité relative et de température dans la mini CTA, lors des essais, étaient d'environ $50 \pm 20\%$ et de $20 \pm 2^\circ\text{C}$ respectivement. Pour chaque média, au moins 3 essais de reproductibilité ont été effectués.

Pour chaque média, le régime d'écoulement a été déterminé pour la gamme de vitesses de filtration v_f étudiées à l'aide de Re_f (nombre adimensionnel Reynolds de fibres présenté dans le **Chapitre 1**). Pour rappel, la gamme de vitesses de filtration v_f pour le filtre G4 est comprise entre 0 – 0,7 m/s. Pour les médias F7 et F9, la gamme de vitesses de filtration v_f est comprise entre 0 et 0,2 m/s. Il est important de préciser que la vitesse frontale v correspond à une vitesse de passage calculée en tenant compte de la surface de passage de la gaine $S \text{ (m}^2\text{)}$, tandis que la vitesse de filtration v_f correspond à la vitesse calculée en tenant compte de la surface développée du filtre $S_{\text{filtre}} \text{ (m}^2\text{)}$. Les équations suivantes permettent d'estimer l'une et l'autre :

$$v = \frac{Q}{S} \quad ; \quad v_f = \frac{Q}{S_{\text{filtre}}} \quad \text{Eq. 2-4}$$

Pour des valeurs de Re_f supérieures à 1, le régime d'écoulement n'est plus laminaire. Les résultats présentés dans le **Tableau 2-2**, indiquent que le régime d'écoulement est laminaire sur les gammes de vitesses étudiées. Pour le média G4, il faudrait une vitesse supérieure à 1 m/s pour que le régime ne soit plus laminaire, tandis que pour les médias F7 et F9, il faudrait une vitesse supérieure à 6 m/s.

Tableau 2-2. Détermination du régime d'écoulement à travers les filtres prototypes en fonction de la vitesse de filtration.

	Re_f		
v_f (m/s)	G4	F7	F9
0,2	0,19	0,04	0,02
0,7	0,66	0,13	0,06
1	0,94	0,19	0,09
6	5,63	1,14	0,52

Ainsi, pour le calcul du coefficient de perméabilité des médias B_0 (m^2), la relation proposée par Darcy (**Eq. 2-5**) peut être utilisée puisqu'elle est valable pour un régime d'écoulement laminaire. Cette loi indique que la perte de charge est linéairement proportionnelle à la vitesse du fluide traversant le milieu poreux (v en m/s) :

$$\frac{\Delta P}{e} = \frac{\mu v}{B_0} \quad \text{Eq. 2-5}$$

Où μ correspond à la viscosité dynamique de l'air ($1,82 \times 10^{-5}$ Pa.s pour une température de 20°C et pression atmosphérique) et e correspond à l'épaisseur des médias. Le coefficient de perméabilité des filtres vierges est présenté sur la **Figure 2-8**.

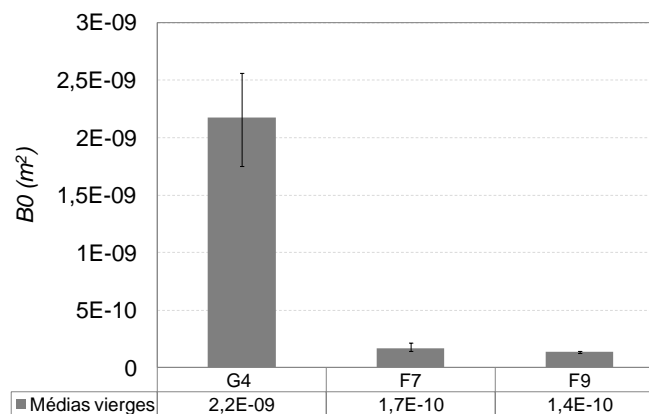


Figure 2-8. Coefficient de perméabilité des filtres prototypes vierges G4, F7 et F9.

Il est possible d'observer que le média G4 est plus perméable que les médias F7 et F9. Ceci est cohérent par rapport aux résultats de la porosité des médias. Le média G4 est le plus poreux et le plus perméable des 3 médias, ainsi que le moins épais.

II.2.5. Matière volatile et taux de cendres

Le taux de cendres et la matière volatile ont été déterminés pour chaque média. Au moins trois essais de reproductibilité ont été réalisés pour chaque média filtrant. Des échantillons de masse comprise entre 0,3 et 0,9 g ont été utilisés. Le taux de cendres et la matière volatile ont été estimés par pesée des échantillons après avoir été préalablement séchés puis calcinés à 525°C pendant 3h. Les résultats sont présentés dans le **Tableau 2-3**. Le média filtrant G4 contient un taux de matière volatile de 94%, qui est le plus élevé de tous les médias utilisés pour cette étude. Les médias F7 et F9 présentent le même taux de matière volatile.

Tableau 2-3. Taux de cendres et matière volatile des médias filtrants étudiés

	G4	F7	F9
Masse d'échantillon sec (g)	0,3 - 0,9	0,2 - 0,5	0,2 - 0,5
Matière volatile (%)	93 ± 1	38 ± 2	38 ± 4
Taux de cendres (%)	7 ± 1	62 ± 4	63 ± 5

Un tableau récapitulatif des différentes propriétés structurales des médias est présenté sur le **Tableau 2-4**.

Tableau 2-4. Propriétés des médias filtrants étudiés - Récapitulatif

	G4	F7	F9
Epaisseur (mm)	2,8 ± 0,7	7,2 ± 1,1	6,8 ± 1,5
Grammage (g/m²)	65 ± 5	75 ± 10	80 ± 3
Porosité totale (%)	92 ± 1	96 ± 2	94 ± 1
Diamètre équivalent aéraulique des fibres : d_{fibres} (µm)	11 ± 2	1 ± 0,2	0,5 ± 0,2
Perméabilité B₀ (m²)	2,2 ± 0,4 x 10 ⁻⁹	1,7 ± 0,5 x 10 ⁻¹⁰	1,4 ± 0,2 x 10 ⁻¹⁰
Taux de cendres (%)	7 ± 1	62 ± 4	63 ± 5

III. Description des aérosols « modèles » étudiés

La revue bibliographique présentée dans le **Chapitre 1**, a mis en évidence la complexité des aérosols de l'air notamment du point de vue de la nature des particules qui le constituent. De

même, il existe une grande variabilité des espèces microbiennes présentes dans l'air à des concentrations assez variables. Pour l'étude du comportement des aérosols microbiens en filtration, il a été décidé de contaminer des filtres prototypes afin de former un gâteau de particules « modèle » comportant une fraction organique, une fraction inorganique et une fraction microbienne. Pour cela, des « aérosols modèles » ont été employés avec des caractéristiques proches de celles des aérosols atmosphériques *urbains*.

III.1. Fraction minérale (Al_2O_3)

Une poudre commerciale d'oxyde d'aluminium Al_2O_3 (marque Buehler, référence commerciale : 1 μm) a été choisie. Sa distribution granulométrique est représentative de celle des aérosols atmosphériques, notamment les PM10, à savoir un diamètre médian optique (Palas Welas) d50 de 0,3 μm et de 1,7 μm en nombre et en masse respectivement (cf. **Chapitre 3**). Des essais préliminaires ont permis de déterminer que cette poudre n'empêche pas la croissance microbienne. Ce type de poudre d'alumine présente un faible pourcentage d'impuretés. Elle est notamment utilisée industriellement pour le polissage et correspond à un type d'aérosol classique très utilisé pour l'étude des performances des filtres (Bénesse *et al.*, 2006 ; Joubert, 2009). La masse volumique réelle de l'alumine est de 3950 kg/m^3 .

III.2. Fraction organique (riz micronisé)

La fraction organique est assurée par une poudre issue d'un broyage de grains de riz blanc à la taille micronique. Dans un premier temps, les grains de riz ont été pré-broyés à l'aide d'un broyeur à meule. Dans un deuxième temps, la poudre obtenue est broyée en deux étapes successives à l'aide d'un broyeur à jet d'air. Ce riz micronisé présente un d50 optique (palas Welas) de 0,6 μm et de 7,4 μm en nombre et en masse respectivement. Cette poudre de riz sert aussi comme nutriment pour les microorganismes puisqu'elle contient des protéines, des glucides, des lipides et des fibres. La masse volumique réelle du riz micronisé déterminée par porosimétrie au mercure est de 1440 kg/m^3 , ce qui est 3 fois plus faible que la masse volumique de l'alumine.

La matière volatile de la poudre de riz broyé a été également déterminée expérimentalement. Trois échantillons de riz micronisé ayant une masse sèche (105 °C pendant une nuit) d'environ $0,6 \pm 0,1$ g ont été calcinés à 525°C pendant 3h. La matière volatile a été déterminée comme étant de $98 \pm 1\%$ par rapport à la masse d'échantillon sec. Ce pourcentage

élevé de matière volatile assure la fraction organique désirée, puisque le riz micronisé sera considéré comme la source de substrats pour les microorganismes.

Une analyse élémentaire a également été réalisée afin d'identifier le contenu de carbone du riz micronisé. Pour ce faire, 4 échantillons ont été séchés à 105°C pendant 1 nuit. Les échantillons secs ayant une masse comprise entre 0,4 et 1 mg ont été récupérés pour l'analyse élémentaire par la suite. Le pourcentage de carbone, d'azote et d'hydrogène a été estimé à 42, 1 et 6% respectivement, par rapport à la masse d'échantillon sec. Le soufre n'a pas été détecté. Un schéma récapitulant ces résultats est présenté sur la **Figure 2-9a**.

Afin d'identifier d'autres éléments présents dans le riz micronisé, de manière qualitative, une analyse par fluorescence X a été menée pour 2 échantillons de riz préalablement séchés à 105°C. Le spectre obtenu est présenté sur la **Figure 2-9b**. D'autres éléments comme le phosphore (P), le soufre (S), le potassium (K) et le calcium (Ca) ont été détectés. La présence de ces éléments dans le riz micronisé, assurent une source de nutriments pour les microorganismes.

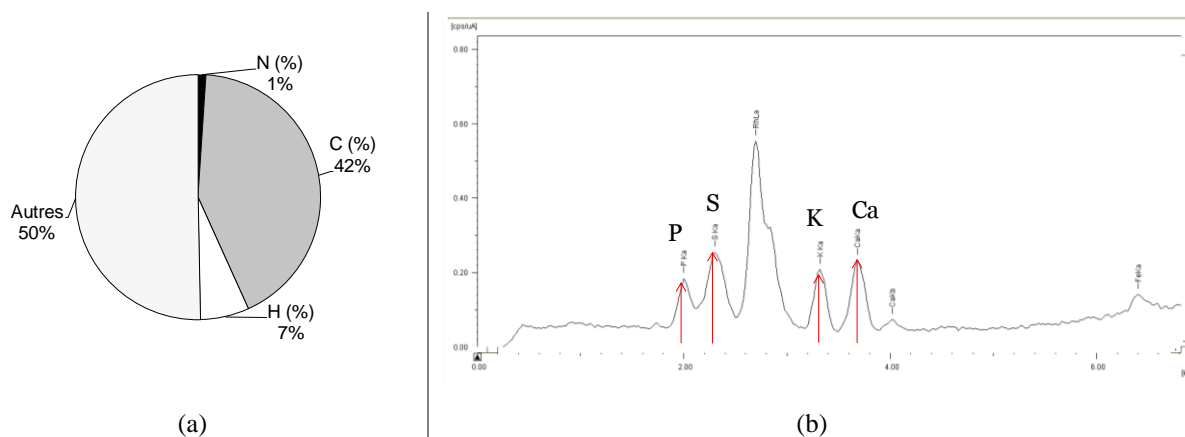


Figure 2-9. Eléments présents dans le riz micronisé détectés par analyse élémentaire (a) et par Fluorescence X (b).

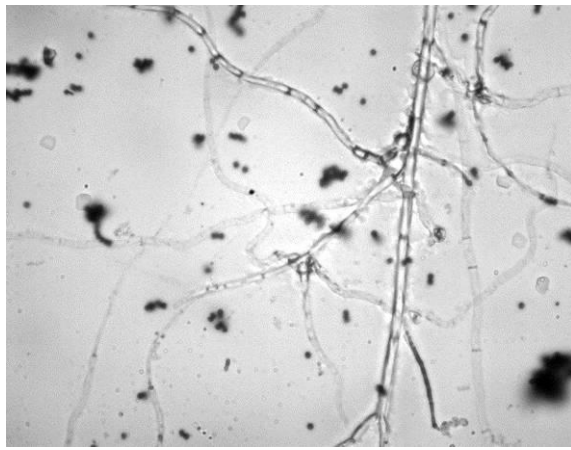
Le riz apporte également un champignon, isolé au laboratoire et identifié par Microseq comme étant *Penicillium chrysogenum*. La famille *Penicillium* fait partie des espèces fréquemment trouvées dans l'air tant extérieur qu'intérieur. Des essais au laboratoire ont été réalisés afin d'estimer la quantité de champignon apporté par le riz. Pour ce faire, 4 suspensions de riz ont été préparées : 2 contenant une concentration de 20 mg/L de riz micronisé dans de l'eau déminéralisée préalablement stérilisée et 2 contenant une concentration d'environ 40 mg/L. Les suspensions ont été placées à l'étuve à 25°C pendant 1 h. Ensuite, un étalement sur boîtes de Petri, sur milieu Rose Bengale Chloramphenicol (RBC),

a été réalisé afin d'effectuer un comptage des microorganismes présents avec le riz. L'incubation a été réalisée à 25°C pendant 3 jours. Les résultats révèlent que le riz apporte environ 2250 ± 850 UFC du champignon *P. chrysogenum* par gramme de riz.

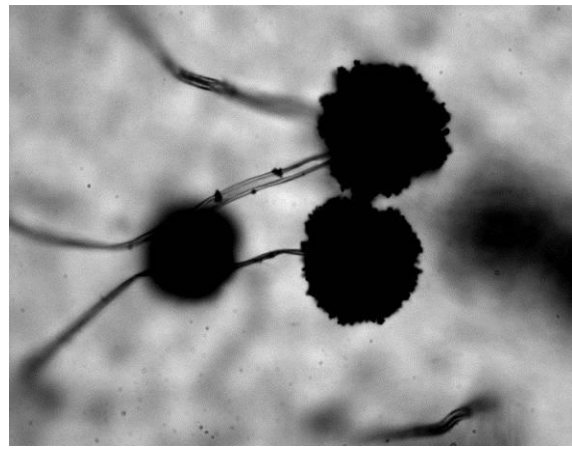
III.3. Consortium microbien

Il a été choisi d'aérosoliser une suspension de microorganismes composée de spores à la fois d'une espèce fongique et d'une espèce bactérienne, à savoir *Aspergillus niger* (UMIP 2467.98) et *Bacillus subtilis* respectivement. Cette dernière présente la propriété de former des endospores. Ces deux espèces appartiennent à des familles fréquemment présentes dans l'air, tant extérieur qu'intérieur. Elles ne présentent pas de pouvoir pathogène important (risque biologique : classe 1). Néanmoins, leur étude est particulièrement intéressante, notamment d'un point de vue sanitaire, car dans ces familles, *Aspergillus spp* et *Bacillus spp*, il existe d'autres espèces avec un pouvoir pathogène important (comme présenté dans le **Chapitre 1**), comme le cas d'*Aspergillus fumigatus* ou *Bacillus anthracis*, microorganismes qui présentent un pouvoir toxigène élevée (Molleta-Denat, 2012).

Des observations au microscope optique et au MEB ont été réalisées des spores d'*A. niger*. Sur la **Figure 2-10**, le mycélium et l'appareil fructifère qui contient les spores d'*A. niger* sont présentés. L'observation du mycélium formé par les champignons permet de comprendre leur mécanisme de croissance du fait qu'il s'agit d'une stratégie de recherche de nutriments et de survie. Il est possible d'imaginer que sur les filtres, les champignons développent cette structure pour se répandre sur la surface à la recherche de nutriments. Ce qui est un mécanisme bien différent par rapport aux bactéries, comme il a été expliqué dans le **Chapitre 1**. Sur la **Figure 2-11**, deux photographies sont présentées des spores d'*A.niger* observées au MEB. Ces observations permettent d'estimer un diamètre géométrique des spores fongiques, qui est compris entre 1,5 µm et 3 µm, ce qui est une valeur comparable à celle reportée dans la littérature comme diamètre aérodynamique pour ce type de spores, entre 3 et 5 µm (Reponen, 1995).



(a) Mycélium



(b) Spores

Figure 2-10. Mycélium et appareil fructifère d'*A.niger* observés au microscope optique.

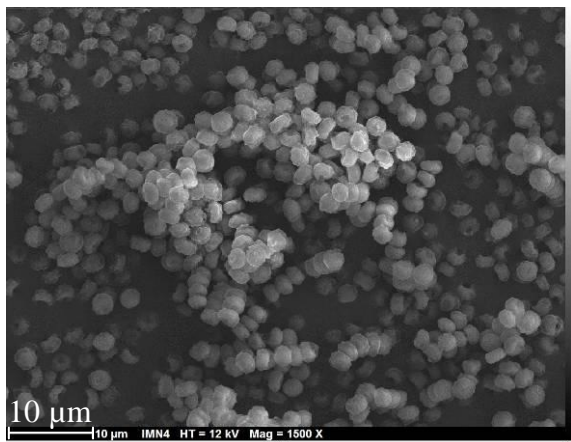
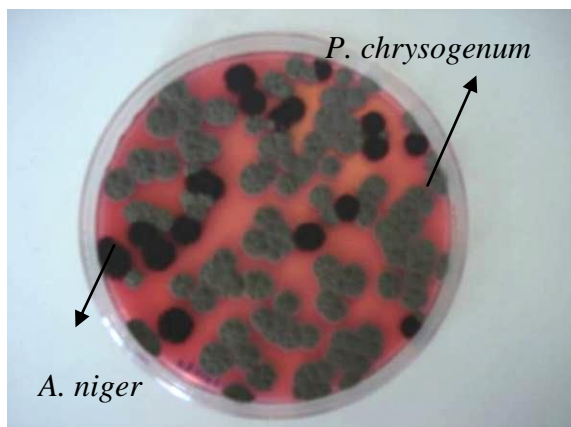


Figure 2-11. Spores d'*A.niger* observées au MEB.

La photographie présentée sur la **Figure 2-12a**, met en évidence les deux types de colonies fongiques qui sont étudiées. Les spores d'*A. niger* sont noires, tandis que les spores de *P. chrysogenum* sont vertes. Ceci était un avantage au moment du comptage puisqu'il est possible de déterminer la concentration de chaque souche. Les colonies de *B. subtilis* sont présentées sur la **Figure 2-12b**.



(a) Colonies fongiques



(b) Colonies bactériennes

Figure 2-12. Colonies fongiques sur milieu RBC et colonies bactériennes sur gélose nutritive.

La distribution granulométrique en nombre d'un aérosol généré pendant 20 min dans la mini CTA contenant uniquement les endospores de *B. subtilis*, a été mesurée à l'aide du compteur de particules APS. Le temps de discrétisation du compteur est de 1 min, soit 20 mesures sur la durée de l'essai. Cet aérosol a été généré à partir d'une suspension de spores dans l'eau déminéralisée préalablement stérilisée, par voie liquide à l'aide du nébuliseur AGK-2000, comme l'explique le protocole de génération qui sera présenté plus loin dans ce manuscrit. Des concentrations moyennes en nombre pour chaque classe du compteur i , C_{Ni} , ont été normalisées par la concentration moyenne en nombre totale, c'est-à-dire, compte tenu de toutes les tailles de particules C_N . Ce ratio a été normalisé par la taille de classe ($\log dX$). La distribution granulométrique est présentée sur la **Figure 2-13**. Cette distribution a été corrigée par rapport à la distribution granulométrique d'un aérosols « blanc », à savoir, nébulisation d'un volume d'eau sans présence de spores. Les résultats montrent un diamètre médian de 0,6 μm .

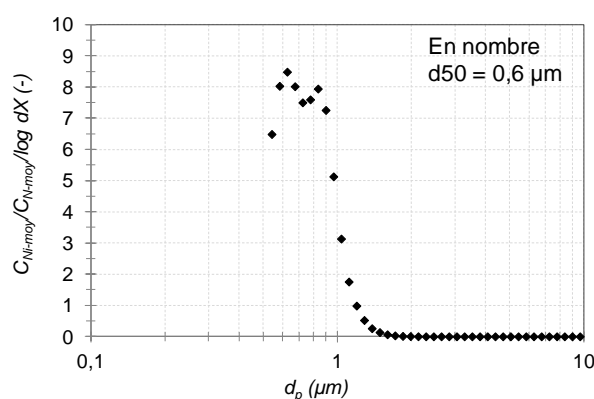


Figure 2-13. Distribution granulométrique d'un aérosol contenant des endospores de *B. subtilis* mesurée par APS.

Le **Tableau 2-5** récapitule les aérosols étudiés et leur diamètre caractéristiques :

Tableau 2-5. Aérosols étudiés et leur diamètre caractéristique.

	Diamètre (distribution en nombre) (μm)	Diamètre (distribution en masse) (μm)
Al_2O_3	d50 : 0,3 μm (Palas Welas)	d50 : 1,7 μm (Palas Welas)
Riz micronisé	d50 : 0,6 μm (Palas Welas)	d50 : 7,4 μm (Palas Welas)
Endospores <i>B. subtilis</i>	d50 : 0,6 μm (APS) 1 μm (Agranovski, 2001)	-
Spores <i>A. niger</i>	1,5 – 3 μm (MEB) 3 – 5 μm (Reponen, 1993)	-

L'obtention des distributions granulométriques des particules d'alumine et du riz micronisé, en nombre et en masse, sera expliqué plus en détails dans le **Chapitre 3**.

IV. Choix des techniques de génération, d'échantillonnage et de quantifications des aérosols étudiés

IV.1. Génération des aérosols particuliers et microbiens

A l'échelle du laboratoire, pour générer les aérosols modèles sélectionnés, il a été choisi une méthode conventionnelle pour la dispersion de particules à l'aide d'un générateur Palas à brosse tournante RBG-1000. Ce générateur contient un réservoir cylindrique (diamètre : 10 mm, hauteur : 7 cm) où les particules sont disposées ; à l'aide d'un piston, les particules sont acheminées vers la brosse qui, en tournant, les disperse. De l'air comprimé alimente le générateur, et achemine les particules vers la sortie de celui-ci à un débit de génération de 5 m³/h. Les particules générées avaient été préalablement séchées à l'étuve pendant 1 nuit à 70°C et à 100°C, respectivement pour les particules de riz micronisé et d'alumine. Pour rappel, le riz apporte le champignon *P. chrysogenum*.

Concernant les aérosols microbiens, la génération par voie liquide a été sélectionnée car elle semble moins stressante pour les microorganismes. En effet, ils peuvent être générés à partir de suspensions liquides de spores et non à partir de cellules lyophilisées ou déshydratées comme le cas de la génération par voie sèche. Il a été choisi de générer un consortium microbien, c'est-à-dire, une seule suspension composée de spores fongiques et de bactéries contenant des endospores. Le nébuliseur de suspensions liquides AGK 2000 Palas, a été choisi pour aérosoliser la suspension microbienne. Ce nébuliseur contient un réservoir (volume de 500 mL) dans lequel la suspension microbienne est introduite. Une entrée d'air comprimé fait barboter la solution vers la sortie du générateur qui avec sa forme de cyclone, fait recycler les grosses particules, en produisant un aérosol plutôt fin à un débit de 6 L/min. A la sortie du générateur, il est possible d'installer une colonne qui permet le séchage de l'aérosol généré. Cet appareil présente des avantages comme le fait de pouvoir générer pendant de longues durées (2 ou 3 heures) sans une perte de viabilité importante dans la solution microbienne (cf. **Figure 2-14a**). De plus, il est possible de générer aussi bien les champignons que les bactéries de manière relativement stable dans le temps et les concentrations des microorganismes générés sont satisfaisantes pour les finalités de ce projet, à savoir entre 10³ et 10⁷ UFC/m³ (cf. **Figure 2-14b**).

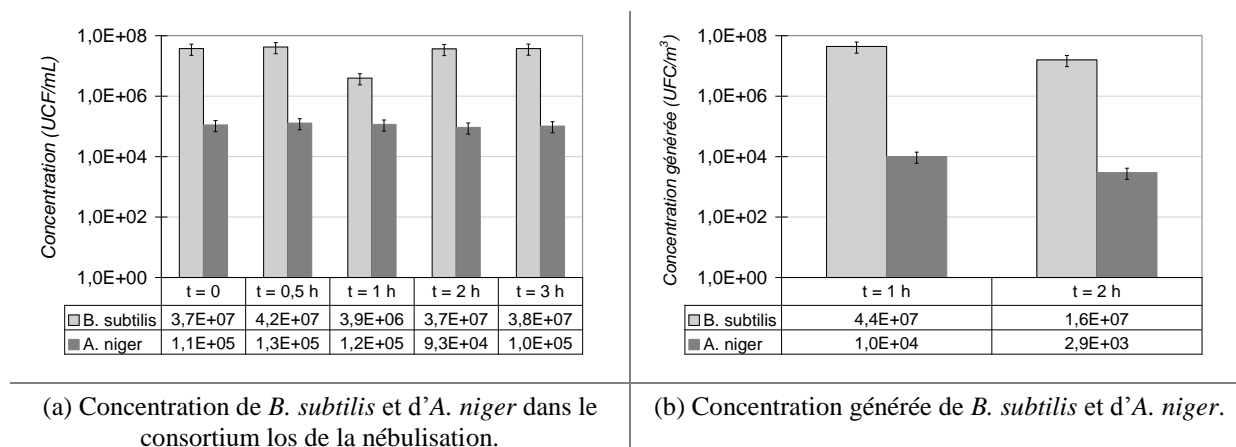


Figure 2-14. Evolution de la concentration de microorganismes dans le consortium et de la concentration générée lors d'un test préliminaire pour la mise au point du protocole de génération à l'aide du nébuliseur Palas AGK2000.

IV.1.1. Protocole de préparation des souches pour génération

Pour les spores fongiques, une récolte de spores est réalisée à partir de boîtes de Petri préalablement ensemencées. Les spores bactériennes sont récupérées à partir d'un bouillon nutritif préalablement ensemencé. Ensuite, une étape de lavage de la suspension est réalisée par centrifugation. Un schéma simplifié du protocole de préparation des spores fongiques et bactériennes est présenté sur la **Figure 2-15** et **16**, respectivement. Le protocole détaillé est décrit dans l'**Annexe 2**.

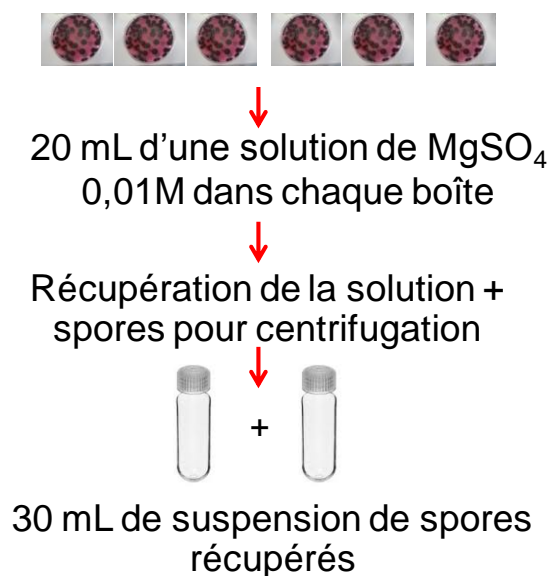


Figure 2-15. Protocole de préparation de la suspension de spores d'*A. niger*.

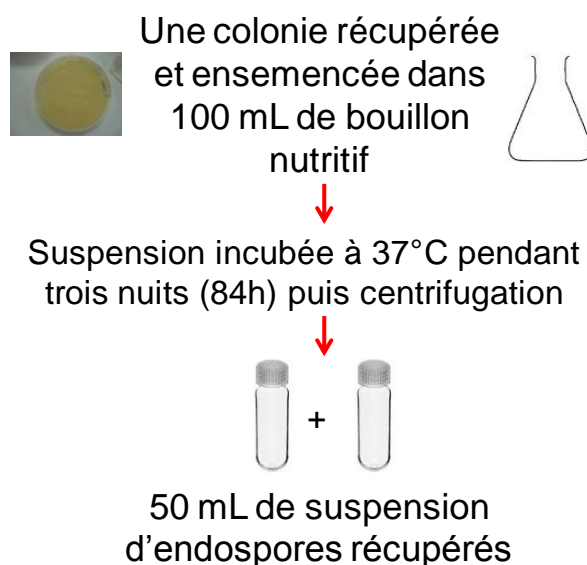


Figure 2-16. Protocole de préparation de la suspension de spores de *B. subtilis*.

Ce temps d'incubation de 84 h a été déterminé suite à des essais préliminaires qui ont montré qu'après 84 h d'incubation, les bactéries commencent la sporulation. De plus, il a été observé qu'une suspension de bactéries préparée pendant un temps d'incubation inférieur, notamment pendant 16 h, présentait trop de mortalité lors de l'aérosolisation. Régulièrement, des colorations de Gram et des observations au microscope optique ont été réalisées afin de vérifier la présence de *B. subtilis* dans la suspension de spores récupérée. Le consortium utilisé pour la contamination des filtres prototypes dans la mini CTA a été préparé de la manière suivante :

- 40 mL de suspension de spores de *B. subtilis*
- 90 mL de suspension de spores d'*A. niger*.
- 70 mL d'eau déminéralisée préalablement stérilisée à l'autoclave.

En conclusion, 200 mL de consortium sont préparés pour chaque essai dans la mini CTA. Ce consortium a été nébulisé à l'aide du générateur AGK 2000 afin de contaminer les filtres. La génération du consortium a eu lieu le jour même que sa préparation.

IV.2. Echantillonnage des aérosols microbiens

Tant à l'échelle du laboratoire qu'à pleine échelle, pour l'échantillonnage des aérosols microbiens, le Biosampler (SKC) a été sélectionné comme technique d'échantillonnage car il présente l'avantage de la collecte « en douceur » des microorganismes sur un liquide collecteur et la possibilité de réaliser plusieurs types d'analyse après le prélèvement grâce à

l'importante quantité de liquide collecté (9 -20 mL). Le Biosampler est soupçonné d'induire une sélection des microorganismes plus résistants au stress de collecte. Cependant, cette limitation du Biosampler affectera peu les performances de collecte des espèces étudiées dans ces travaux puisqu'il s'agit d'une suspension microbienne des spores fongiques et bactériennes, qui sont des formes de résistance. Par exemple, selon la littérature (Lin *et al.* 2000), l'efficacité biologique de collecte de *Bacillus subtilis* sous sa forme sporulée est supérieure à 95%.

IV.3. Technique de quantification des aérosols particuliers et microbiens

IV.3.1. Compteurs de particules

Pour le comptage des particules, deux compteurs ont été utilisés dans le cadre de ces travaux. Pour les essais à l'échelle du laboratoire, le compteur optique Palas Welas a été utilisé. Le principe de fonctionnement est décrit dans le **Chapitre 1**. Il a été observé que l'indice de réfraction utilisé modifiait significativement la distribution granulométrique des aérosols. Une recherche bibliographique sur ce sujet a été menée afin de trouver les indices de réfraction les plus adaptés pour le comptage des particules d' Al_2O_3 et du riz micronisé. Un indice de réfraction de 1,6 a été retenu. Pour la caractérisation des aérosols microbiens, le compteur APS a été utilisé dont le principe est exposé dans le **Chapitre 1**.

Pour le comptage des particules dans les centrales de traitement d'air à pleine échelle suivies, deux compteurs Grimm 1.108 identiques ont été utilisés. Ce compteur de particules est un spectromètre à faisceau laser qui permet la mesure en continu de la granulométrie et de la concentration de particules.

IV.3.2. Quantification par UFC

IV.3.2.1. Description des milieux gélosés

Pour la quantification de la concentration des microorganismes, la méthode classique de la mise en culture a été choisie pour le suivi de la génération des aérosols microbiens, de l'efficacité de filtration et pour le suivi de l'éventuel développement des microorganismes sur les filtres. Trois milieux de culture ont été utilisés : la gélose nutritive, le milieu Rose Bengale Chloramphenicol et le milieu Czapek – Dox Broth. Ce dernier milieu n'a été utilisé que pour

le dénombrement des microorganismes collectés de l'air extérieur pour le suivi des CTA pleine échelle.

La gélose nutritive (Biokar) est un milieu non spécifique de préparation commerciale à base de tryptone et d'extrait de viande qui agit comme source de carbone et d'azote. Ce milieu convient pour la détection d'un large éventail de microorganismes hétérotrophes. Cependant, ce milieu est assez complet et riche et permet prioritairement la croissance de plusieurs espèces bactériennes.

Pour les champignons, le milieu Rose Bengale Chloramphénicol RBC (Biokar) a été choisi car il permet la croissance et le dénombrement uniquement des champignons grâce à l'action antibactérienne du chloramphénicol. Ce milieu contient de la peptone papainique de soja, du glucose, du phosphate monopotassique, du sulfate de magnésium, du rose Bengale et du Chloramphénicol.

Le milieu Czapek-Dox Broth (Difco TM) est un milieu semi-synthétique utilisé pour la culture de champignons de l'environnement, notamment pour l'isolement de souches d'*Aspergillus*, *Penicillium* et des *Paecilomyces*. Le saccharose constitue la source de carbone tandis que le nitrate de sodium constitue la source unique d'azote. Le sulfate de magnésium, chlorure de potassium, sulfate de fer servent de sources d'ions essentielles. La composition détaillée des milieux est présentée dans l'**Annexe 2**.

IV.3.2.2. Définition des LD et LQ

Pour la quantification des microorganismes par comptage UFC, les limites de détection et de quantification ont été définies. La limite de quantification (LQ) a été définie à 10 UFC par unité de volume étalé sur la boîte de Petri quand il n'y a pas de dilution (dilution 0). C'est-à-dire, il faut au moins 10 colonies sur la gélose pour considérer que le résultat soit statistiquement quantitatif. Cette définition de la LQ obéit au fait d'observer idéalement 1 colonie pour la dilution 1 à 10 (dilution -1). Ainsi, le résultat peut être vérifié sur deux dilutions.

La limite de détection (LD) a été définie à 1 UFC par unité de volume étalé sur la boîte de Petri. Cette limite obéit au fait que la quantité minimale observable est de 1 colonie sur la gélose.

Par exemple, pour le cas de l'extraction des microorganismes des filtres (protocole détaillé plus loin dans ce chapitre), si 400 μ L sont prélevés de la de solution d'extraction et qu'ils sont étalés sur la gélose, la LQ serait :

$$LQ \left(UFC/cm^2 \right) = \frac{10 \frac{UFC}{400\mu L} \times \frac{1000\mu L}{1mL} \times V_{solution\ extraction} (mL)}{S_{filtre} (cm^2)}$$

Dans le cas du Biosampler, pour la détermination de la concentration de microorganismes dans l'air prélevé, si 1 mL est prélevé du liquide collecteur dans le Biosampler et il est étalé sur la gélose, la LQ serait :

$$LQ \left(UFC/m^3 \right) = \frac{10 \times \frac{UFC}{1mL} \times V_{liquide\ collecte} (mL)}{V_{air\ prélevé} (m^3)}$$

IV.4. Récapitulatif

Un résumé des conditions de génération des particules, à l'échelle laboratoire dans la mini CTA, est présenté dans le **Tableau 2-6**.

Tableau 2-6. Résumé des conditions de génération des particules dans la mini CTA.

Générateur de poussière	Palas RBG 1000
Piston utilisé	10 mm de diamètre
Débit de génération	5 m ³ /h
Vitesse d'ascension du piston	40 mm/h (pour l'Al ₂ O ₃) 50 mm/h (pour le riz)
Vitesse de rotation de la brosse	1200 tour/min
Appareil de mesure	Compteur Optique Palas Welas
Indice de réfraction	1,6 (pour l'Al ₂ O ₃ et pour le riz)
Gamme de mesure	0,2 – 10 μ m pour l'Al ₂ O ₃ 0,3 – 40 μ m pour le riz
Débit de prélèvement	5 L/min
Conditions du banc	
Débit dans la gaine	140 m ³ /h
Vitesse moyenne dans la gaine	2,8 m/s
Humidité relative	15%
Température	23°C
Masse volumique réelle des poudres	3950 kg/m ³ pour l'Al ₂ O ₃ (Lorimier, 2005) 1440 kg/m ³ pour le riz

Un résumé des conditions de génération des microorganismes dans la mini CTA est présenté dans le **Tableau 2-7**.

Tableau 2-7. Résumé des conditions de génération des microorganismes dans la mini CTA.

Nébuliseur	AGK 2000
Pression	2 bar
Débit de génération	6 L/min
Volume initial de la suspension microbienne	200 mL
Volume final de la suspension microbienne	160 mL
Volume généré pendant 3 h	Environ 40 mL
Composition de la suspension	40 mL suspension de spores fongiques (<i>A. niger</i>) +40 mL suspension de spores bactériennes (<i>B. subtilis</i>) +120 mL eau ultra pure
Conditions du banc	
Débit de passage	140 m ³ /h
Débit de prélèvement	13 L/min (débit du Biosampler)
Humidité relative	80% (sans régulation de HR dans la mini CTA) 50% (avec régulation de HR dans la mini CTA)
Température	23 ± 2 °C

V. Protocole d'extraction des microorganismes des filtres

Le protocole d'extraction des microorganismes des filtres a été développé dans le cadre de la thèse de Bonnevie-Perrier (2008). Dans un premier temps, un échantillon de filtre d'une surface connue est prélevé. Ensuite, cet échantillon est placé dans une solution isotonique de MgSO₄ 0,01M stérilisée auparavant. Cette solution contient également un agent tensioactif mouillant à hauteur de 1,2% (Tween 20) par rapport au volume total. Le transfert des microorganismes du filtre vers la solution est assuré par une agitation à 250 tours par minute pendant deux heures. Afin d'augmenter le pourcentage de récupération des espèces microbiennes, Bonnevie-Perrier (2008) montre qu'une agitation supplémentaire aux ultrasons durant 1 min à 20 sonic est nécessaire. Ceci, afin d'accroître l'efficacité de récolte des microorganismes. Ainsi, l'application de ce protocole permet une récupération entre 80 et 85% des microorganismes présents sur le média filtrant.

VI. Tests préliminaires de survie des deux souches sélectionnées

VI.1. Test de vérification de la croissance de *B. subtilis* et d'*A. niger* dans une suspension de riz micronisé

Dans un premier temps, des tests préliminaires pour la vérification de la croissance microbienne dans une solution de riz ont été réalisés afin de vérifier si le champignon apporté par le riz, *P. chrysogenum*, empêchait ou pas le développement des souches sélectionnées. Pour ceci, 4 solutions contenant du riz ont été préparées dans 25 mL d'eau déminéralisée préalablement stérilisée. Une des solutions a été ensemencée avec *B. subtilis*. Une autre solution a été ensemencée avec *A. niger*. Les autres deux solutions n'ont pas été ensemencées et elles sont considérées comme de solutions « témoins ». La solution ensemencée avec *B. subtilis* a été mise à l'étuve à 37°C pendant 1 nuit, tandis que la solution ensemencée avec *A. niger* a été mise à l'étuve à 25°C pendant 3 jours, ainsi que les solutions témoins. Les solutions ont été étalées sur des milieux de culture, à savoir la gélose nutritive (à 37°C pendant 1 nuit) et RBC (à 25°C pendant 3 jours) pour comptage des UFC. Les résultats sont présentés dans le **Tableau 2-8**.

Tableau 2-8. Résultats de l'essai de vérification de la croissance de *B. subtilis* et d'*A. niger* dans une solution de riz micronisé.

	Riz (mg)	Conditions d'incubation dans la solution	Concentration de microorganismes (UFC/mL de solution)
1. 25 mL H ₂ O déminéralisée + 1 colonie <i>B.subtilis</i>	126	37°C pendant 1 nuit	1,4 x 10 ⁶ (<i>B. subtilis</i>)
2. 25 mL H ₂ O déminéralisée + 1 colonie <i>A. niger</i>	88	25°C pendant 3 jours	1,2 x 10 ⁵ (<i>A. niger</i>)
3. 25 mL H ₂ O déminéralisée	87	25°C pendant 3 jours	<i>P. chrysogenum</i> observé (non quantifié)
4. 25 mL H ₂ O déminéralisée	100	25°C pendant 3 jours	<i>P. chrysogenum</i> observé (non quantifié)

Après cet essai, il est possible de conclure que le riz est un support nutritif pour la croissance des microorganismes, puisque *B. subtilis* et *A. niger* ont été détectés à des concentrations importantes après l'incubation dans la solution contenant du riz. Ainsi, les microorganismes propres du riz, n'empêchent pas la croissance des souches sélectionnées.

VI.2. Test de croissance de *B. subtilis* et d'*A. niger* sur des filtres G4 et F7 plans colmatés avec des particules Al_2O_3 /riz micronisé

Dans un deuxième temps, un test de croissance des souches *B. subtilis* et *A. niger* a été réalisé, sur des filtres G4 et F7 plans préalablement colmatés avec des particules d' Al_2O_3 et du riz micronisé. L'objectif de cet essai était de déterminer si les microorganismes sélectionnés et celui apporté par le riz micronisé étaient capables de trouver des nutriments dans le gâteau de particules et de se développer sur les filtres. Premièrement, des filtres G4 et F7 plans ont été colmatés avec de particules d' Al_2O_3 et du riz micronisé dans un banc de filtration conçu pour le colmatage des filtres plans. Ce banc de filtration de section carrée de 10 x 10 cm permet le colmatage des filtres ayant une surface de filtration de 9,6 cm x 9,6 cm = 92,16 cm². Les filtres ont été colmatés à une vitesse de filtration de 0,15 m/s. Les valeurs de la masse de particules déposées sur les filtres sont présentées dans le **Tableau 2-9**.

Tableau 2-9. Résumé des filtres plans colmatés avec de particules d' Al_2O_3 et du riz micronisé.

Echantillon	Filtre	Al_2O_3	Riz micronisé	Ratio massique Al_2O_3 / riz micronisé	Masse déposée sur les filtres (g)
1 et 2	F7	X	X	4	0,04 g d' Al_2O_3 0,14 g de riz micronisé
3 et 4	G4	X	X	1	0,06 g d' Al_2O_3 0,05 g de riz micronisé
5	G4		X	-	0,07 g de riz (pas d' Al_2O_3)
6	F7		X	-	0,08 g de riz (pas d' Al_2O_3)

Après le colmatage, des échantillons circulaires d'environ 5 cm de diamètre ont été prélevés sur les filtres. Ces échantillons ont été placés dans un dispositif développé dans le cadre de la thèse de Forthomme (2012) conçu pour la génération contrôlée de microorganismes sous une hôte de microbiologie. Un schéma du dispositif est présenté sur la **Figure 2-17**. Ce dispositif est une enceinte permettant de contaminer en parallèle jusqu'à 4 échantillons de filtres plans avec un aérosol déterminé. Pour cet essai, seulement 3 porte-filtres sont utilisés pour les échantillons de filtres.

En aval de chaque porte-filtre, il est nécessaire de connecter un Biosampler qui prélève les aérosols microbiens qui ne sont pas retenus sur les filtres. Le Biosampler connecté au porte-

filtre vide prélève l'air non filtré, ce qui représente la concentration du consortium microbien généré. Les microorganismes sont prélevés dans chaque Biosampler dans 20 mL de solution physiologique de NaCl à une concentration de 9 g/L. La solution restant dans le Biosampler après échantillonnage est analysée par comptage des UFC.

Un consortium microbien contenant des spores de *B. subtilis* et d'*A. niger* a été généré à l'aide d'un nébuliseur médical alimenté par une entrée d'air comprimé à 2 bars de pression. La concentration de *B. subtilis* et d'*A. niger* dans le consortium était de 3×10^6 et de 1×10^5 UFC/mL, respectivement. Le consortium a été généré pendant 1 h à raison de 4,5 L/min d'aérosol généré, soit 12 mL de consortium générés.

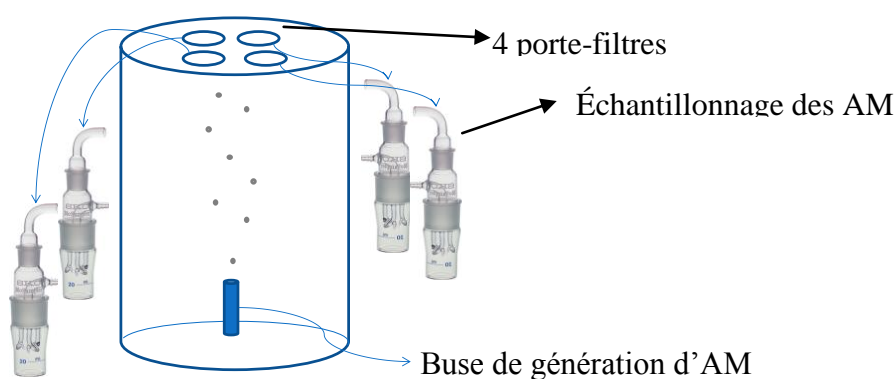
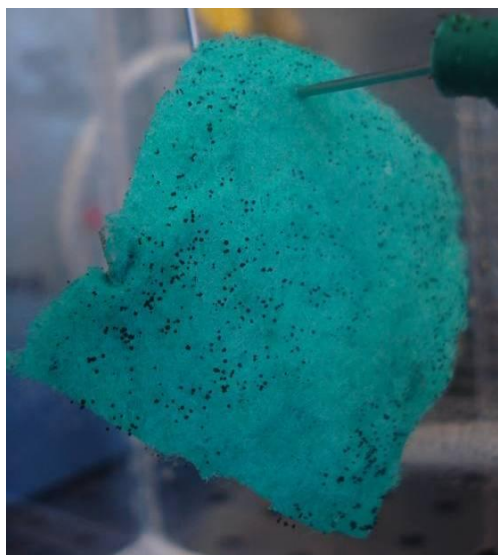
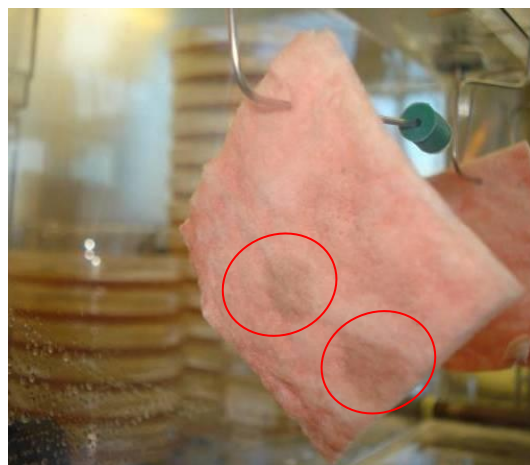


Figure 2-17. Schéma du dispositif développé par Forthomme (2012) pour la génération d'aérosols microbiens et contamination des filtres plans.

Après la génération du consortium microbien, les échantillons des filtres contaminés ont été placés dans une enceinte hermétique qui assurait une humidité relative supérieure à 90%. Les filtres ont été incubés pendant 41 j à 25°C. Cet essai a été considéré comme un témoin positif, pour vérifier le développement des microorganismes sur des filtres plans G4 et F7 colmatés avec des particules d' Al_2O_3 1 μm et du riz micronisé. La concentration de microorganismes sur les filtres est présentée dans le **Tableau 2-10**. À $t = 0$, la concentration de microorganismes sur les filtres a été déterminée théoriquement à partir de la concentration générée et de l'efficacité des médias par rapport à la taille de particules caractéristique de chaque souche. Après 41j d'incubation, une extraction des microorganismes présents sur les filtres a été réalisée et la concentration a été déterminée par comptage UFC. Deux photographies des médias G4 et F7, après 41 d'incubation sont présentées sur la **Figure 2-18**. Sur le média G4, les spores noires d'*A. niger* sont observées à la surface. Sur le média F7, de taches grises sont observées à la surface.

Tableau 2-10. Résultats de croissance microbienne sur filtres G4 et F7 colmatés avec des particules d' Al_2O_3 et du riz micronisé.

			Concentration UFC/cm ²				Croissance ?	
			Calcul théorique à t = 0		Comptage UFC à t = 41 j		log	
Echantillon	Al_2O_3	Riz micronisé	<i>B. subtilis</i>	<i>A. niger</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>A. niger</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>A. niger</i>
1 – F7	X	X	4,5E+07	1,7E+06	1,1E+09	1,9E+07	2	1
2 – F7	X	X			8,2E+08	9,2E+07	1	1
3 – G4	X	X			2,0E+07	2,9E+09	-	3
4 – G4	X	X	1,4E+08	3,4E+06	3,8E+07	6,9E+09	-1	3
5 – G4		X			2,4E+07	1,5E+10	-1	4
6 – F7		X			3,3E+09	4,5E+07	1	1

(a) Spores d'*A. niger* à la surface du média G4

(b) Taches sur la surface du média F7

Figure 2-18. Observation de spores d'*A. niger* sur les médias G4 et F7.

Cet essai a permis de conclure que :

- *A. niger* se développe sur tous les échantillons de filtres étudiés mais davantage sur le filtre G4 que sur le F7. Une meilleure croissance est observée quand le filtre était colmaté avec seulement des particules de riz micronisé (échantillon 5).
- *B. subtilis* se développe sur le filtre F7, en présence de particules de riz micronisé et d' Al_2O_3 (échantillons 1, 2 et 6), mais pas sur le G4. Ce résultat peut s'expliquer par l'efficacité du filtre F7 pour la taille d'endospores de *B. subtilis*, qui est plus importante que celle du filtre G4.

VII. Conclusion du chapitre

Dans ce chapitre, les médias filtrants considérés dans cette thèse et leurs caractéristiques structurales ont été présentés. Trois médias d'efficacités différentes selon la norme EN779 (2012) ont été étudiés : un média G4, un F7 et un F9. Les aérosols inorganiques, organiques et microbiens ont été également exposés. Il s'agit des particules d'alumine qui assurent une fraction minérale, des particules de riz micronisé qui assurent une fraction organique et un aérosol microbien. Le riz micronisé apporte également le champignon *P. chrysogenum* et agit comme substrat pour les microorganismes. Les diamètres caractéristiques des endospores de *B. subtilis* et des spores d'*A. niger* ont été déterminés expérimentalement et comparés avec la littérature. Pour un aérosol d'endospores de *B. subtilis*, le diamètre aérodynamique médian a été mesuré comme étant de 0,6 μm . Pour les spores d'*A. niger*, des observations au MEB ont été réalisées. Le diamètre géométrique des spores a été déterminé comme étant compris entre 1,5 et 3 μm . Les formes sporulées ont été considérées dans cette étude car elles représentent une forme de résistance et de dissémination développée par les microorganismes et de ce fait elles se trouvent fréquemment dans l'air.

Les protocoles de préparation de souches microbiennes ont été présentés. Les techniques de génération de particules et nébulisation des aérosols microbiens, ainsi que d'échantillonnage et de comptage d'aérosols ont été définies et elles sont la base pour les expériences réalisées à l'échelle du laboratoire qui seront présentées dans le **Chapitre 3**.

Pour l'étude à pleine échelle qui sera présentée dans le **Chapitre 4**, les mêmes techniques d'échantillonnage et de quantification d'aérosols microbiens sont employées.

Chapitre 3. Etude de l'influence des
paramètres de gestion des CTA sur le
développement d'aérosols microbiens –
Echelle du laboratoire

I. Introduction

Dans ce chapitre, les travaux développés à l'échelle laboratoire sont exposés. Dans un premier temps, un dispositif expérimental développé au laboratoire est présenté, nommé mini CTA, ainsi que sa validation aéraulique et ses performances pour le contrôle de l'humidité relative et de la température de l'air. Ensuite, la démarche expérimentale est exposée. Les résultats sont présentés en deux parties. En première partie, les performances des filtres vis-à-vis des particules et des aérosols microbiens sont discutées. En deuxième partie, le comportement des microorganismes sur les filtres est discuté. Enfin, les conclusions sur l'étude en conditions laboratoire sont exposées.

II. Développement du dispositif expérimental : mini CTA

II.1. Conception et dimensionnement de la mini CTA

Pour l'étude des performances de filtration des filtres prototypes décrits dans le Chapitre 2, un dispositif expérimental a été développé entièrement par l'équipe technique du laboratoire. Un cahier des charges a été préalablement défini. Les spécifications de ce cahier des charges sont présentées, ainsi que les solutions techniques mises en œuvre :

- Un module de filtration constitué de deux étages de filtration en série.
- Trois différentes configurations de modules de filtration, par exemple, un filtre classé G4¹⁸ en premier étage suivi d'un F7 en deuxième étage. Pour ce faire, le banc d'essais a été construit comme étant un dispositif modulable. Il comprend différents tronçons, facilement démontables pour s'adapter aux différentes configurations, dont les tailles s'ajustent aux dimensions des filtres prototypes.

¹⁸ Pour rappel, la classification des filtres dans ces travaux s'exprime conformément à la norme européenne EN779 2012.

- Contrôle de l'humidité relative (60 - 90%) et de la température dans le banc (20 - 25°C). Afin de pouvoir contrôler efficacement la température et l'humidité relative dans le banc d'essais, il a été décidé de fonctionner en boucle fermée. Selon les conditions, l'air peut être chauffé ou refroidi afin de maintenir une température de consigne comprise entre 20 et 25°C. L'air est chauffé à l'aide de résistances chauffantes électriques. Un régulateur agit sur la puissance électrique délivrée afin d'ajuster la température en aval du ventilateur à la valeur de consigne. Pour refroidir l'air, un échangeur de chaleur eau/air est placé dans la veine d'air en sortie du ventilateur. Cet échangeur est alimenté par une boucle d'eau en circuit fermé dont la température est régulée par un groupe froid (bain thermostaté). La consigne de température de l'eau est ajustée à l'hygrométrie de l'air dans la veine afin ne pas provoquer de condensation sur l'échangeur. Du fait de la configuration en boucle fermée de la mini CTA, l'air a tendance à s'échauffer lentement ce qui a nécessité le fonctionnement en continu du groupe froid.
- Concernant l'humidité relative, la gamme de travail requise est de 60 – 90%. Selon les conditions expérimentales, il peut être nécessaire d'humidifier ou de sécher l'air. L'humidité relative de l'air dans le banc d'essais est mesurée à l'aide d'un hygromètre capacitif placé en amont du ventilateur. Dans le cas où il faut humidifier l'air, l'augmentation d'hygrométrie se fait par une injection d'eau en goutte à goutte dont la durée et la fréquence sont pilotées. L'eau injectée est stockée dans un réservoir maintenu en pression par une alimentation en air comprimé. Dans le cas contraire, une pompe dérive une partie de l'air de la gaine d'essais vers un sécheur composé d'un groupe froid à effet Peltier où l'humidité de l'air vient se condenser. Les condensats sont évacués par une pompe péristaltique ce qui assure l'étanchéité du système.
- Régulation du débit de filtration :
 - Fonctionnement du banc d'essais à un débit nominal, c'est-à-dire, correspondant aux valeurs des vitesses nominales de filtration conseillées par le fabricant des filtres (0,1 - 0,7 m/s selon les filtres). Compte tenu de la surface développée par les filtres prototypes (cf. Chapitre 2.II.1) et des dimensions des caissons contenant ces filtres, le débit volumique nominal Q_N retenu dans le banc d'essais a été fixé à 140 m³/h. Cette condition a conduit au choix du ventilateur. Il s'agit plus précisément d'une soufflante à canal latéral capable de générer un débit maximal de 320 m³/h.

- Fonctionnement du banc d'essais à un débit réduit. Afin de simuler les cycles marches réduites/marches nominales, qui peuvent avoir lieu dans les CTA à pleine échelle, il a été décidé que le débit réduit Q_R correspondrait à environ 20% du débit nominal. Ce dernier a été fixé à $30 \text{ m}^3/\text{h}$.
- Déroulement des essais à débit d'air constant. Le débit d'air est mesuré par un capteur massique thermique et régulé par un contrôleur qui pilote la vitesse de rotation du ventilateur par l'intermédiaire d'un variateur de vitesses électronique.
- Suivi du colmatage des filtres. Chaque filtre est équipé d'un capteur de pression différentielle afin de mesurer en continu l'évolution de sa perte de charge.
- Injection des aérosols (particules et microorganismes). Une buse de génération est placée en aval du ventilateur. Ce point d'injection a été placé à une distance de 120 cm en amont du premier étage de filtration, soit 10 fois le diamètre hydraulique de la gaine, afin de permettre le redressement de l'écoulement et d'avoir un colmatage relativement homogène des filtres. Cette condition a fait l'objet de la validation aéraulique de la mini CTA.
- Suivi des concentrations des aérosols lors du colmatage. Les concentrations en aérosols sont mesurées en amont et en aval de chaque filtre, soit en 3 points de mesures. Pour cela, 3 vannes pilotées par le système de contrôle permettent de réaliser des prélèvements séquentiels au sein de la veine d'essai pour le comptage des particules et l'échantillonnage des aérosols microbiens. Ces trois vannes permettent l'échantillonnage selon une séquence définie par l'opérateur et automatisée. Chaque point de mesure, pour les différentes configurations d'étude, dispose d'une buse de prélèvement dimensionnée au cas par cas afin d'assurer les conditions de prélèvement iso-cinétique selon les débits des différents compteurs ou échantillonneurs.
- Accessibilité aux filtres. Les filtres sont retirés des caissons à la fin des essais afin de poursuivre les analyses microbiologiques. Cette étape doit être facilitée afin de limiter au maximum toute perturbation du gâteau de particules formé à la surface des filtres. La modularité du banc favorise cette étape.

- Facilité du nettoyage. Des aérosols microbiens étant générés dans le banc d'essais, il est nécessaire de le désinfecter à la fin de chaque test. L'utilisation d'acier inoxydable pour la construction du banc facilite les opérations de nettoyage à l'alcool.

Le **Tableau 3-1** présente le récapitulatif des spécifications de conception et de dimensionnement pour le design de la mini CTA.

Tableau 3-1. Spécifications pour le design de la mini CTA

Condition	Gamme de travail	Caractéristiques du dimensionnement répondant aux exigences
Fonctionnement aux vitesses nominales de filtration	0,1 à 0,9 m/s	Banc modulable (caissons de différentes tailles) Débit nominal (Q_N) fixé à 140 m ³ /h
Fonctionnement à marche réduite	-	Débit réduit fixé à 30 m ³ /h, soit environ 20% du Q_N .
Contrôle de l'humidité relative	60-90 %	Unités de séchage et d'humidification de l'air. Fonctionnement en boucle fermée pour optimiser la régulation climatique dans le banc.
Contrôle de la température	20-25°C	Systèmes de chauffage et refroidissement
Suivi des concentrations de particules et d'aérosols microbiens en amont et en aval des filtres	Iso-cinétisme	Buses de prélèvement adaptables pour chaque caisson et chaque système d'échantillonnage (compteurs de particules et Biosampler)
Possibilité de générer AM - Nettoyage	-	Banc en acier inoxydable, composé de différents caissons démontables facilitant le nettoyage

II.2. Principe de fonctionnement :

Le banc d'essais fonctionne en boucle fermée. Il est composé de conduites de sections carrées et sa longueur totale est de 3,5 m (**Figure 3-2**). Le schéma de principe est présenté dans la **Figure 3-1**, où il est possible d'identifier deux modules : le module de filtration, et le module de conditionnement de l'air.

Module Filtration :

- (1) Point d'injection d'aérosols (particules et microorganismes) au centre de la conduite.
- (2) Point de prélèvement iso-cinétique en amont des filtres (**P1**) situé au centre de la gaine.
- (3) Premier étage de filtration avec suivi de la perte de charge.
- (4) Point de prélèvement iso-cinétique entre les deux étages de filtration (**P2**).
- (5) Deuxième étage de filtration avec suivi de la perte de charge.
- (6) Deux points de prélèvement iso-cinétique en aval des filtres. Un point est situé à un tiers de la hauteur de la canalisation et l'autre à deux tiers sur le même plan (**P3**).

Module Conditionnement de l'air :

- (7) Résistance chauffante.
- (8) Filtre H14 pour l'élimination des particules qui n'ont pas été collectées dans les étages précédents. Les particules qui ne sont pas collectées dans cet étage constituent le bruit de fond qui est considéré comme négligeable par rapport à l'apport concentré de particules introduites dans le banc au point d'injection.
- (9) Filtre évent pour la remise en pression du système (l'air à l'intérieur de la veine est à la pression atmosphérique).
- (10) Sécheur composé d'un groupe froid à effet Peltier et d'un condenseur purgé par une pompe péristaltique (**Figure 3-3**).
- (11) Système d'injection d'eau pour l'humidification de l'air (**Figure 3-4**).
- (12) Echangeur de chaleur (**Figure 3-5**).
- (13) Ventilateur (**Figure 3-5**).

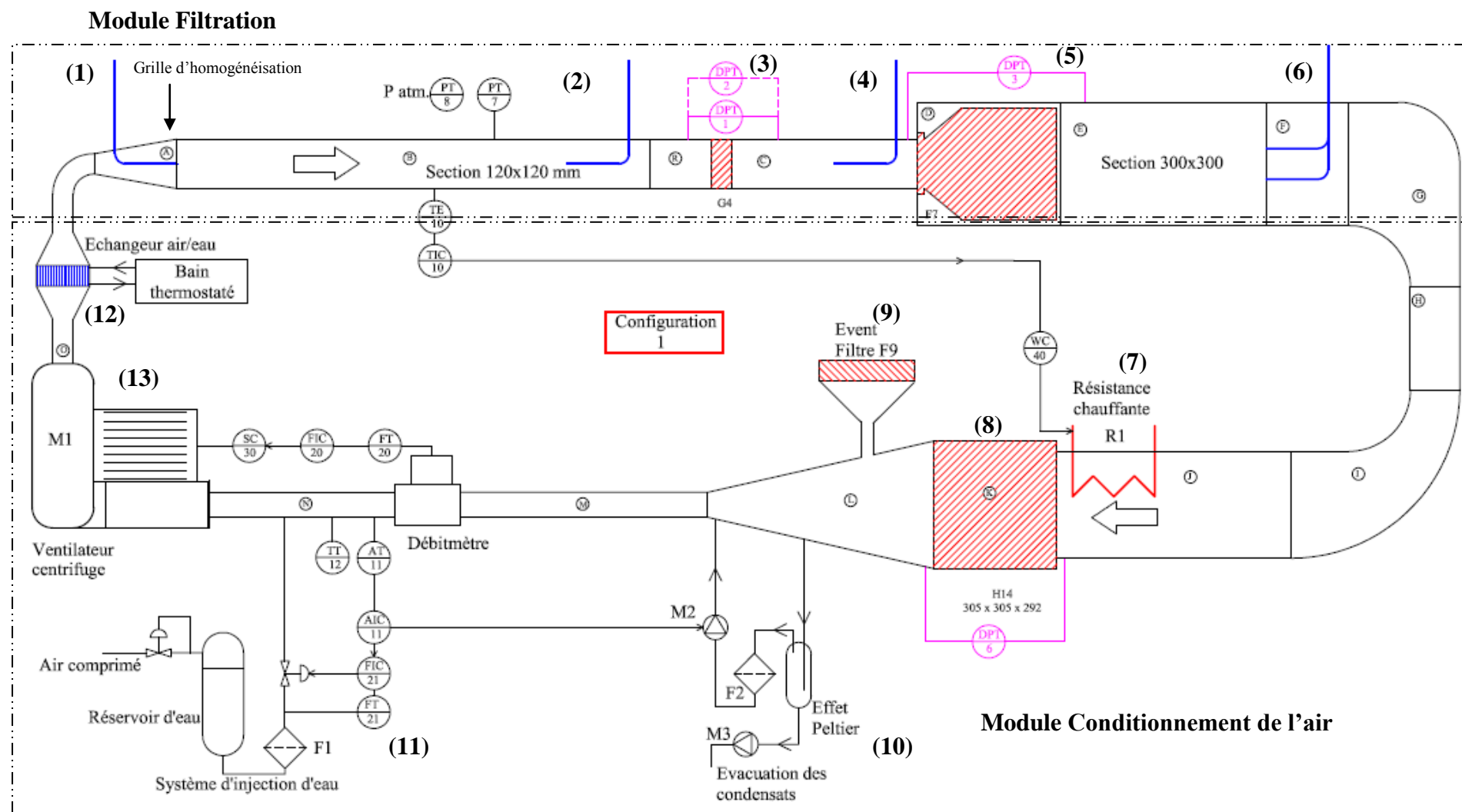


Figure 3-1. Schéma de principe. Premier étage : filtre plan plissé ; deuxième étage : filtre à poches.



Figure 3-2. Mini CTA



Figure 3-3. Sécheur composé d'un group froid à effet Peltier

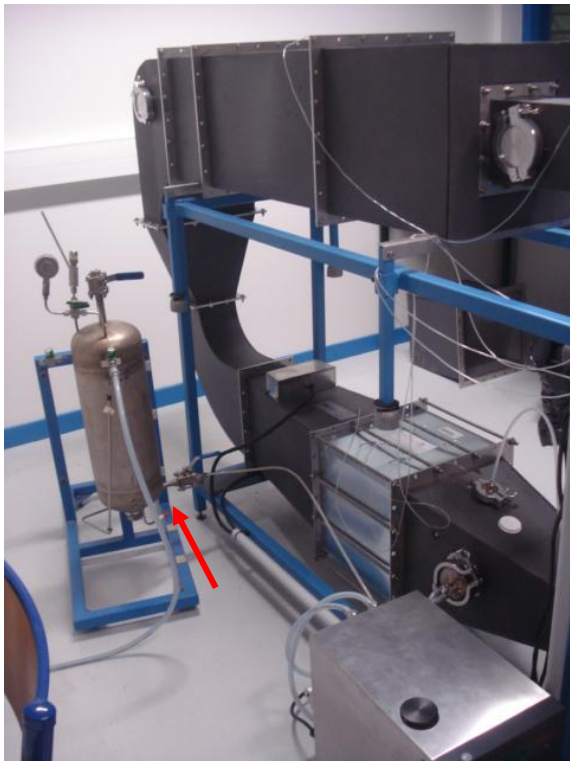


Figure 3-4. Système d'injection d'eau.

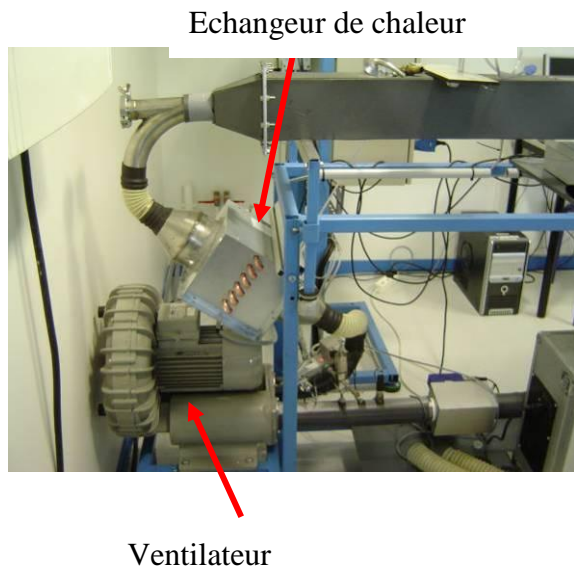


Figure 3-5. Ventilateur et échangeur de chaleur.

Un système de commande automatisé et piloté à partir d'une unité centrale gère la régulation de l'humidité relative, de la température et du débit d'air et permet parallèlement l'acquisition et la sauvegarde des données (température, humidité, pression, perte de charge, etc.).

Dans la **Figure 3-6**, les trois configurations possibles d'étude sont présentées. La configuration 1 correspond à un filtre plan plissé G4 en premier étage suivi d'un filtre à poche d'efficacité F7. La configuration 2 correspond à deux filtres à poches, un F7 en premier étage

suivi d'un F9 en deuxième étage. La configuration 3 correspond à un filtre F7 à poches en premier étage et un filtre dièdre à petits plis d'efficacité F9 en deuxième étage. Dans le cadre de ces travaux, uniquement les configurations 1 et 2 ont été étudiées.

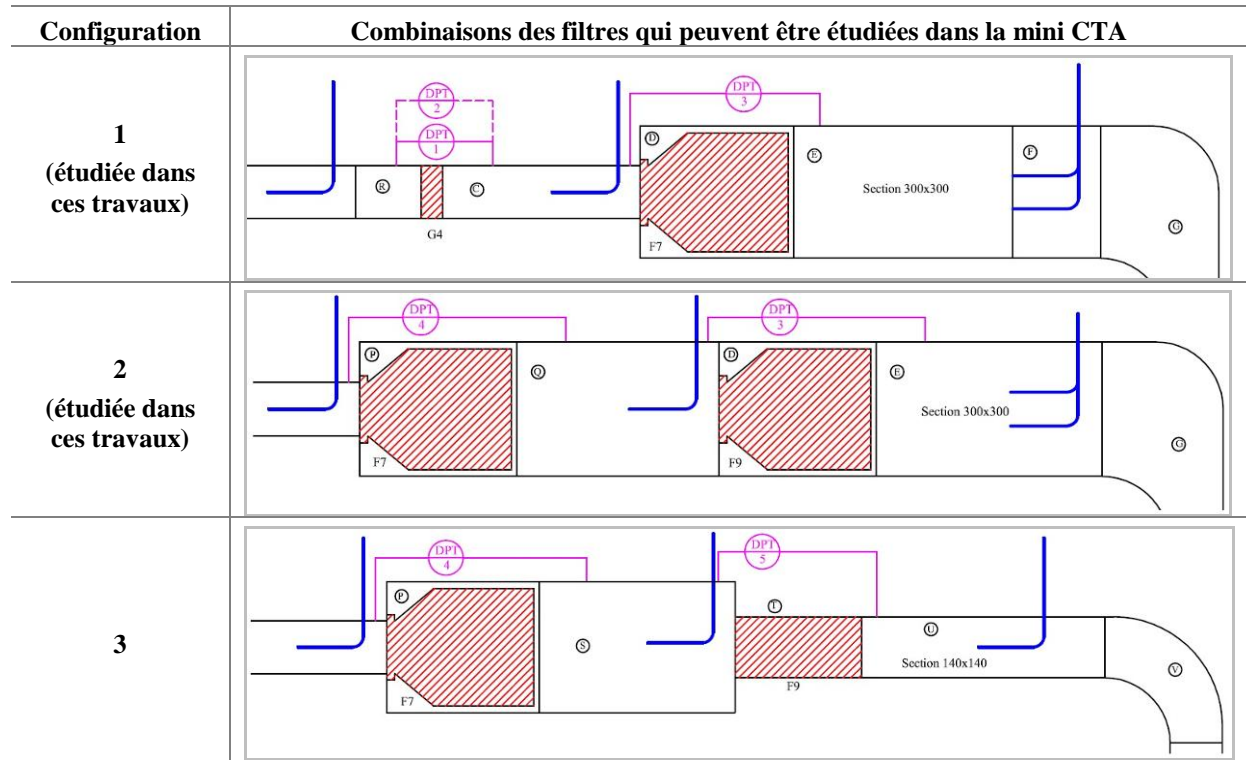


Figure 3-6. Configurations qui peuvent être testées dans la mini CTA.

Le **Tableau 3-2**, regroupe quelques valeurs caractéristiques de dimensionnement et de vitesse d'écoulement dans les caissons pour chaque configuration. Les sections **P1**, **P2** et **P3**, correspondent à l'amont du premier étage de filtration, au milieu des deux filtres et à l'aval du deuxième étage respectivement.

Tableau 3-2. Caractéristiques des caissons composant le module filtration dans la mini CTA

Section →	Configuration 1			Configuration 2			Configuration 3		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3	P1	P2	P3
Côté – section carrée (m) (Diamètre hydraulique)	0,12	0,12	0,3	0,12	0,3	0,3	0,12	0,3	0,14
Surface de passage (m ²)	0,014 4	0,014 4	0,09 0	0,014 4	0,09 0	0,09 0	0,014 4	0,090	0,0196
Vitesse débitante à débit nominal de 140 m ³ /h (m/s)	2,7	2,7	0,4	2,7	0,4	0,4	2,7	0,4	2,0
Vitesse débitante à débit réduit de 30 m ³ /h (m/s)	0,6	0,6	0,1	0,6	0,1	0,1	0,6	0,1	0,4

Le nombre de Reynolds **Re** a été calculé afin de caractériser l'écoulement dans la mini CTA, d'après l'équation :

$$Re = \frac{u\rho D}{\mu} \quad \text{Eq. 3-1}$$

Où **ρ** est la masse volumique de l'air à 80% d'HR et 20°C, soit 1,18 kg/m³, **μ** est la viscosité dynamique de l'air à pression atmosphérique et à 20°C, soit 1,80 x 10⁻⁵ P.s et **D** est la dimension caractéristique de la conduite. Pour les canalisations carrées, cette valeur est égale au diamètre hydraulique (Idel'cik, 1986). Les valeurs de **Re** calculées pour chaque section sont regroupées dans le **Tableau 3-3**.

Tableau 3-3. Régime d'écoulement pour les différentes sections de la mini CTA

		Configuration 1			Configuration 2			Configuration 3		
		P1	P2	P3	P1	P2	P3	P1	P2	P3
Q _N	Re	21245	21245	8498	21245	8498	8498	21245	8498	18210
	Régime	Zone de transition			Zone de transition			Zone de transition		
Q _R	Re	4552	4552	1821	4552	1821	1821	4552	1821	3902
	Régime	Zone de transition		Laminaire	Zone de transition	Laminaire		Zone de transition	Laminaire	Zone de transition

En conclusion, l'écoulement en amont des filtres (zone de génération de particules, commune pour les trois configurations) est dans la zone de transition entre le régime laminaire et le régime turbulent. Le banc étant construit à partir de tôles d'acier inoxydable laminées à froid permet de définir la conduite comme techniquement lisse.

II.3. Validation expérimentale de la mini CTA

II.3.1. Validation aéraulique

La phase de validation aéraulique avait deux objectifs :

- Vérifier expérimentalement l'homogénéité de l'écoulement dans la zone située en amont des filtres (**P1**), afin de garantir un colmatage homogène sur la totalité de la surface des filtres. Cette zone est considérée comme critique, car elle correspond à la zone de mélange et de rétablissement de l'écoulement après la génération des particules. Cette zone est commune pour les trois configurations étudiées.
- Vérifier expérimentalement le profil de l'écoulement en aval du deuxième filtre (**P3**) afin d'évaluer l'effet du coude au niveau du prélèvement.

Une campagne de mesures des profils des vitesses a été réalisée. Pour ceci, des cadres permettant la mesure de la vitesse de l'écoulement sur 25 points (x,y) sur un même plan, ont été installés : un en amont des filtres et l'autre en aval (**P1** et **P3** respectivement). Les mesures ont été réalisées à l'aide d'un anémomètre à fil chaud. Différents promoteurs de turbulence, par exemple, des grilles d'homogénéisation de l'écoulement ont été testés. Cette validation a été réalisée à débit nominal et à débit réduit. La démarche expérimentale, les profils des vitesses pour les différentes conditions étudiées et les conclusions de cette validation sont présentés en détails dans l'**Annexe 3**.

Concernant **P1**, les principales conclusions sont :

- Bonne répétabilité des mesures. La mesure des vitesses pour une condition aéraulique donnée a été réalisée au moins deux fois. Les écarts entre deux mesures des vitesses sur un même point (x, y) sont inférieurs à 6%, ce qui démontre la bonne répétabilité de celles-ci.
- Nécessité de deux grilles d'homogénéisation. Le profil des vitesses en amont des filtres avec la canalisation vide présentait une dissymétrie entre le haut et le bas de la canalisation. Ainsi, deux grilles d'homogénéisation ont été installées : une dans l'échangeur de chaleur et l'autre en aval du coude au niveau de l'injection des aérosols.
- Stabilisation de l'écoulement en aval du coude, au niveau du point d'injection d'aérosols. La longueur droite en amont des filtres de 120 cm, qui équivaut à 10 fois le diamètre hydraulique de la conduite, ainsi que la présence des grilles d'homogénéisation, sont capables de redresser l'écoulement. Un profil de type parabolique relativement symétrique est obtenu en amont des filtres.
- Importance de bien centrer la buse de génération. La présence de la buse de génération n'a pas une influence significative sur le profil de vitesses mesuré en amont des filtres. En revanche, la présence d'air provenant du générateur a un effet sur la symétrie du profil si elle n'est pas correctement centrée dans la canalisation. Ainsi, une attention particulière a été portée sur le placement des buses, afin de garantir un écoulement homogène.
- Influence significative de la buse de prélèvement située en amont du premier étage de filtration sur le profil des vitesses. En effet, l'écoulement passe peu derrière la buse de prélèvement, car des vitesses faibles ont été observées dans cette zone-là. Cette

inhomogénéité locale de l'écoulement a été intégrée dans le protocole d'échantillonnage des filtres en fin d'essai pour les analyses microbiologiques.

Concernant **P3**, les principales conclusions sont :

- Le point de prélèvement en aval du deuxième étage de filtration a été positionné 20 cm en amont du coude. Ceci, afin d'éviter l'effet de ce coude sur le champ des vitesses. A l'emplacement choisi, le profil des vitesses est homogène et l'effet du coude est significativement atténué.
- Effet homogénéisateur du filtre à poches placé en deuxième étage sur le profil des vitesses juste en aval de celui-ci.
- Importance de bien ouvrir les poches des filtres. Ce fait a été mis en évidence, non seulement pour l'influence de l'ouverture des poches sur le profil des vitesses en aval, mais aussi pour l'homogénéité du colmatage du filtre sur toute sa surface. Cette pratique a été prise en compte pour chaque essai de colmatage.

II.3.2. Régulation des paramètres climatiques

L'objectif de la validation de la régulation climatique de la mini CTA est de s'assurer de la performance du système qui contrôle l'humidité relative (HR) et la température (T). La démarche expérimentale, les résultats et les conclusions sont présentés dans l'**Annexe 4**.

Les principales conclusions de cette validation sont :

- La régulation d'HR se réalise correctement pour les conditions étudiées (60 et 80%). La variation est de $\pm 1\%$ par rapport à la valeur de consigne.
- La régulation est capable de maintenir la température dans le banc à une valeur comprise entre 20 et 25°C pour une température de consigne de 22°C.
- Pour l'humidification de l'air, les paramètres d'injection d'eau retenus sont : 5 s d'injection à 800 g/h tous les 120s.
- 15 min sont nécessaires au système pour augmenter l'HR d'une valeur de 60% à 80%. Pour le séchage, il faut environ 14 h pour passer de 80% à 60%.

II.3.3. Génération des particules

Un troisième critère de validation de la mini CTA a été étudié, cette fois-ci, concernant la génération de particules. Pour ceci, un filtre test plan en fibres synthétiques type Melt blown, d'efficacité F7, a été exposé à un aérosol de fluorescéine concentrée, généré par un nébuliseur pneumatique médical Omron C29 (CompAir pro). Pendant 20 min, 7 mL de la solution de fluorescéine à une concentration de 4,7 g/L ont été nébulisés à un débit de 4,5 L/min. 9 zones de taille identique avaient préalablement été définies sur le filtre. Une observation visuelle du filtre (**Figure 3-7**), semble montrer un colmatage homogène. Par la suite, le filtre a été récupéré et coupé en suivant le démarquage des carrés. Chaque carré a été plongé dans 10 mL d'eau distillé pendant une nuit afin d'extraire la fluorescéine collectée sur le filtre. Les solutions, avec les coupons de filtre, ont été agitées dans un bain à ultrason pendant 5 min à 10 sonic. Les solutions ont été analysées par absorbance à l'aide d'un spectrophotomètre (UV – 1601 Shimadzu) à une longueur d'onde λ de 490 nm. Trois échantillons ont été analysés pour chaque zone de filtre. Ces valeurs d'absorbance ont permis de calculer la concentration de fluorescéine, grâce à une courbe d'étalonnage préalablement réalisée. Les résultats ont montré que la masse surfacique moyenne de fluorescéine retenue par chaque carré de filtre était de 58 mg/m^2 . Les variations observées par rapport à la moyenne sont comprises entre 6 et 30% ce qui a été considéré comme satisfaisant.

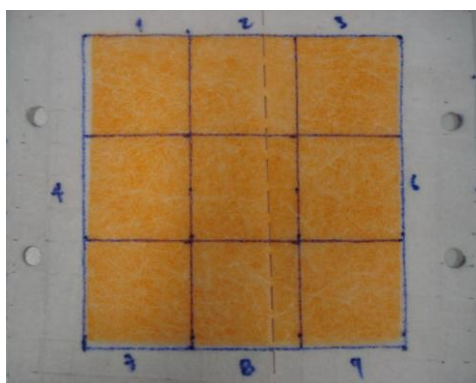


Figure 3-7. Colmatage d'un filtre plan avec de la fluorescéine.

L'influence potentielle de l'utilisation de vannes pneumatiques pour le comptage des particules a également été vérifiée. Ce test a été réalisé pendant la génération et le comptage de particules de riz micronisé sur un filtre test placé en premier étage (sans présence de filtre en deuxième étage). Pour ceci, une génération de particules de riz, préalablement séchées à l'étuve à 50°C, a été réalisée dans la mini CTA. Les particules de riz, correspondant à un

premier lot de broyage, n'ont été utilisées que pour ce test. Le compteur optique Palas Welas a été utilisé pour ce test, dont la gamme de mesure était comprise entre 0,2 et 10 μm . La concentration de particules générée a été d'environ $12000 \pm 3000 \text{ part/cm}^3$. La distribution granulométrique des particules a été mesurée dans deux cas pour les 3 points de prélèvement P1, P2 et P3 : tout d'abord lorsque le compteur de particules était directement connecté à la canne de prélèvement et ensuite en utilisant les vannes pneumatiques en amont du compteur. Une photographie des trois vannes permettant l'acheminement de l'air échantillonné vers le compteur est présentée dans la **Figure 3-8**.

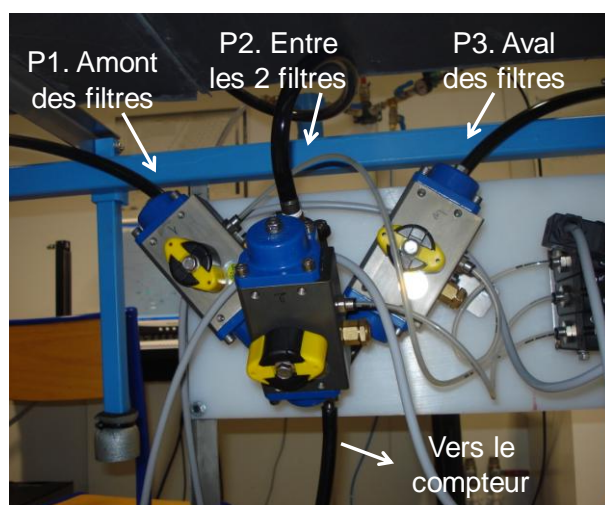


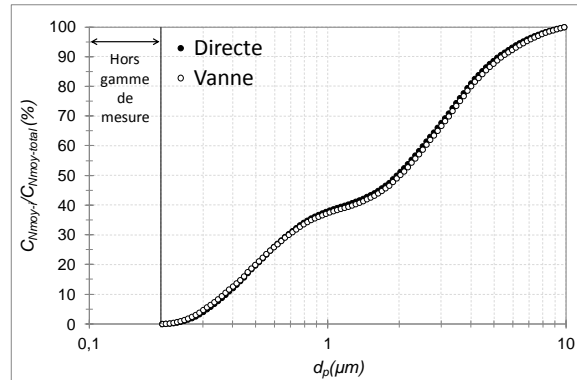
Figure 3-8. Jeu de vannes permettant l'échantillonnage séquentiel pour comptage des particules

La granulométrie des particules a été mesurée par le compteur pendant 5 min à chaque point et pour chaque condition.

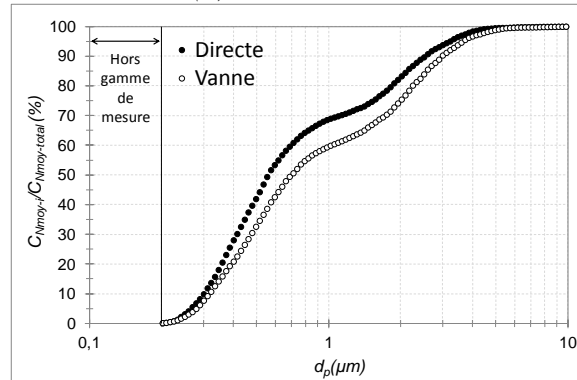
Les résultats sont présentés dans la **Figure 3-9** sur laquelle est représentée la distribution granulométrique cumulée exprimée en pourcentage du ratio C_{Ni-moy}/C_{N-moy} , où C_{Ni-moy} correspond à la concentration moyenne des particules en nombre pour chaque classe de taille i et C_{N-moy} équivaut à la concentration totale moyenne en nombre, c'est-à-dire, toutes classes de taille confondues. Entre chaque basculement des vannes, il y a eu 1 min de « purge » du système, en laissant passer l'air échantillonné dans le système avant de recommencer le comptage.

Concernant **P1**, il est possible de conclure que le fait de passer par la vanne, ne provoque pas un écart significatif entre les deux distributions granulométriques. Les écarts pour chaque classe de taille de particules sont inférieurs à 6% entre les deux mesures. Concernant **P2**, les

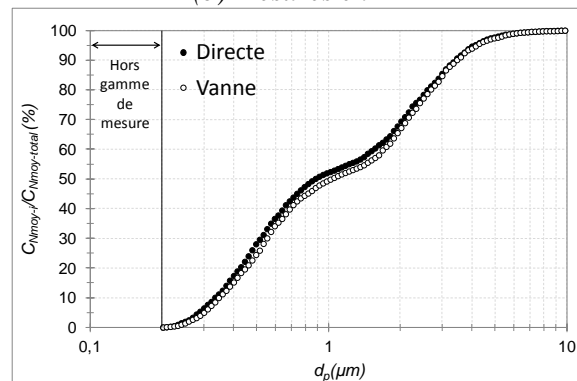
écarts entre les deux mesures sont plus importants, de l'ordre de 25%, notamment entre 0,4 et 3 μm . En **P3**, les écarts sont de l'ordre de 15%. Les écarts en **P2**, pourraient s'expliquer par la perturbation de l'écoulement qui peut avoir lieu en aval du filtre test placé en premier étage de filtration.



(a) Mesures en P1



(b) Mesures en P2



(c) Mesures en P3

Figure 3-9. Test de vérification de l'influence des vannes sur la granulométrie des particules

Ces écarts ont été considérés comme acceptables. Les vannes ont été utilisées pour la suite des travaux, pour les comptages séquentiels en amont et en aval de chaque filtre. En revanche, pour la caractérisation des aérosols, la granulométrie a été mesurée en connectant le préleveur du compteur directement à la canne de prélèvement.

III. Démarche expérimentale

III.1. Description des configurations à tester

Deux configurations de filtres prototypes ont été étudiées dans le cadre de cette thèse. La configuration 1, qui correspond à un filtre plan plissé d'efficacité G4 placé en premier étage suivi d'un filtre F7 à poches en deuxième étage. Dans les CTA à pleine échelle, le filtre G4 est considéré comme ayant une fonction de pré filtration. Cette configuration a été également étudiée dans l'étude pleine échelle de cette thèse (cf. Chapitre 4). La configuration 2 correspond à un filtre F7 à poches en premier étage suivi d'un filtre F9 à poches en deuxième étage.

III.2. Plan d'expériences

Dans le cadre de cette thèse, deux types d'expériences ont été réalisées : les témoins positifs et la simulation de cycles de fonctionnement. Les essais nommés témoins positifs (**T+**) sont réalisés à 90% d'humidité relative et un arrêt prolongé est simulé, afin d'étudier des conditions qui sont a priori propices pour le développement microbien. Ces tests ont également permis d'analyser les temps de colmatage, de mettre au point la procédure d'échantillonnage des filtres et surtout de commencer à comprendre le développement microbien pour ces conditions dites favorables. Les essais nommés cycles de fonctionnement (**CF**) simulent des cycles marche nominale / arrêts pendant les week-ends, qui est une pratique employée dans les CTA réelles. Les essais de type **CF** ont été réalisés pendant 6 semaines.

La même démarche de colmatage a été employée pour les deux types de test. Dans un premier temps, les filtres ont été colmatés avec des particules d'alumine, en suivant les conditions de génération exposées dans le **Chapitre 2**, à débit nominal. Ces filtres pré colmatés, ont été ensuite colmatés avec du riz micronisé jusqu'à un niveau de colmatage du filtre du premier étage correspondant à 50% de la perte de charge (ΔP) maximale conseillée par le fabricant.

Ceci afin d'étudier les performances des filtres à demi-vie. Enfin, l'aérosol microbien a été généré.

Après le colmatage avec les particules et la contamination avec l'aérosol microbien, la mini CTA fonctionne à débit nominal. Pour le cas des témoins positifs (**T+**), la mini CTA a fonctionné pendant 3 jours à 90% d'HR et à une température comprise entre 20°C et 25°C. Ensuite, les filtres ont été récupérés et un premier échantillonnage a été fait pour des analyses microbiologiques ($t = 3j$). Après, les filtres ont été placés dans une enceinte hermétique. Deux béchers remplis d'eau distillée ont été placés dans l'enceinte afin de saturer l'air et de garantir une humidité supérieure à 90% (cf. **Figure 3-10**). L'enceinte a été mise à l'étuve à une température contrôlée de 25°C. Enfin, les filtres ont été analysés d'un point de vue microbiologique à la fin de cette période d'incubation.

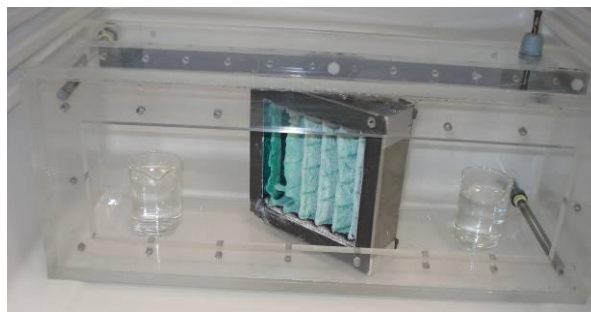


Figure 3-10. Enceinte hermétique

Pour le cas des tests nommés cycles de fonctionnement (**CF**), une fois les filtres colmatés avec les particules et contaminés avec les microorganismes, la mini CTA a fonctionné à débit nominal et à 60% d'HR pendant 5 jours suivi de 2 jours d'arrêt. Ce cycle a été répété pendant 6 semaines. Avec ce test, des conditions plus réalistes de fonctionnement ont été étudiées. Un comptage des particules en aval du deuxième étage a été réalisé à chaque redémarrage du ventilateur, ainsi qu'un échantillonnage des aérosols microbiens en aval de chaque filtre. Après 6 semaines, le filtre a été soumis à des analyses microbiologiques. Un schéma de la démarche expérimentale employée est présenté dans la **Figure 3-11**.

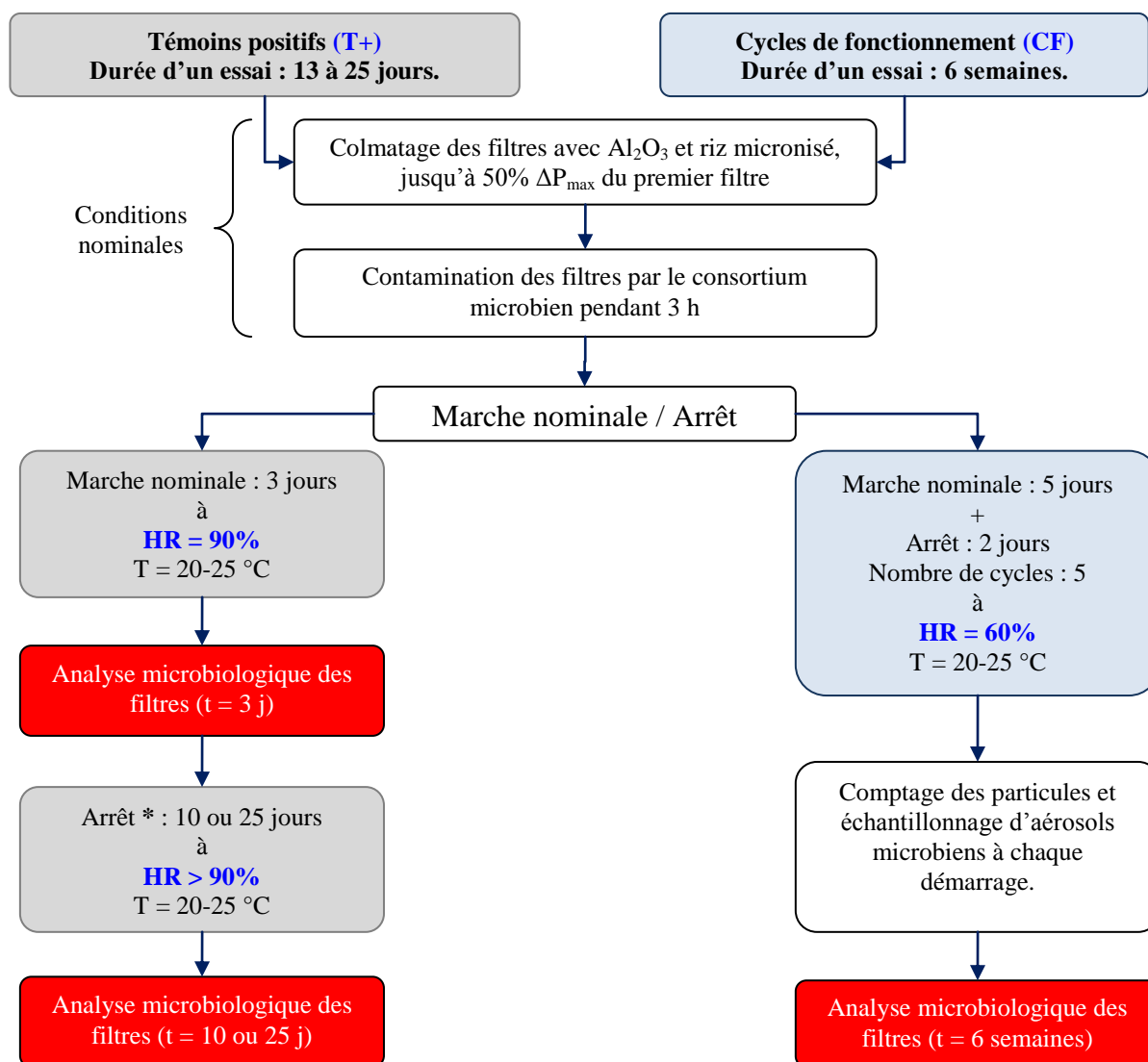


Figure 3-11. Démarche expérimentale des essais sur mini CTA.

Le récapitulatif des expériences réalisées dans ces travaux est présenté dans le **Tableau 3-4**. Un total de 4 essais de type témoins positifs (deux pour chaque configuration) et 2 essais de type cycle de fonctionnement (un pour chaque configuration) a été réalisé. Les témoins positifs ont été répétés car les filtres des premiers tests, **T+1** et **T+2**, ont été colmatés avec une faible quantité de riz, par rapport à l'alumine (ratios 15 :1 et 26 :1 respectivement). En conséquence de quoi, les filtres de la deuxième série des témoins positifs, **T+1bis** et **T+2bis**, ont été colmatés avec un ratio généré Al₂O₃ : riz approximatif de 1 :1 en masse. Une

discussion sur ces ratios générés va être proposée plus loin dans ce chapitre. Le temps d'arrêt pour les témoins positifs est également présenté dans le **Tableau 3-4**. Les filtres de l'essai **T+2bis** ont été placés dans la boîte hermétique pendant un temps plus long, soit 25 jours. Ceci afin de voir si un temps plus long favoriserait la croissance microbienne sur les filtres. Cette décision découle des premiers résultats microbiologiques obtenus de la première série de témoins positifs.

Tableau 3-4. Plan d'expériences

	Essai	HR (%)	Ratio généré Al ₂ O ₃ / Riz	Temps d'arrêt en jours (hors mini CTA pour les T+)
Configuration 1	T + 1	90	15	10
	T +1 bis	90	1,1	13
	CF1	60	1,4	-
Configuration 2	T + 2	90	26	10
	T + 2 bis	90	0,6	25
	CF2	60	0,8	-

III.3. Protocole expérimental

III.3.1. Protocole de colmatage et contamination des filtres

Le protocole expérimental employé pour chaque test, concernant le colmatage des filtres avec les particules (PM) et la contamination avec les aérosols microbiens (AM) est présenté sur la **Figure 3-12**.

Pendant le colmatage des filtres par de particules d'Al₂O₃ et du riz micronisé, un comptage des particules a été réalisé en amont et en aval de chaque filtre en P1, P2 et P3. Le comptage est réalisé pendant 1 min à chaque point. La séquence suivie a été P1/P2/P3, avec 1 min de pause entre chaque comptage. Cette minute d'attente permettait la « purge » des tuyaux et la stabilisation des prélèvements lors du basculement des vannes. Cette précaution évitait la contamination croisée des prélèvements. Ainsi par exemple, entre deux prélèvements en **P1**, il y a 5 min d'écart. Pendant la première heure de génération de microorganismes, un échantillonnage simultané a été réalisé en **P1**, **P2** et **P3** pendant 45 min, à l'aide de Biosamplers. Pendant les dernières 60 min, un deuxième échantillonnage a été réalisé en **P1**, afin de vérifier la stabilité de la génération de microorganismes.

Une courbe de perméamétrie¹⁹ a été réalisée pour chaque test à trois moments différents :

- pour les filtres vierges,
- pour les filtres colmatés avec les particules (PM)
- après le fonctionnement (soit 3 jours pour les tests **T+**, soit 6 semaines pour les tests **CF**).

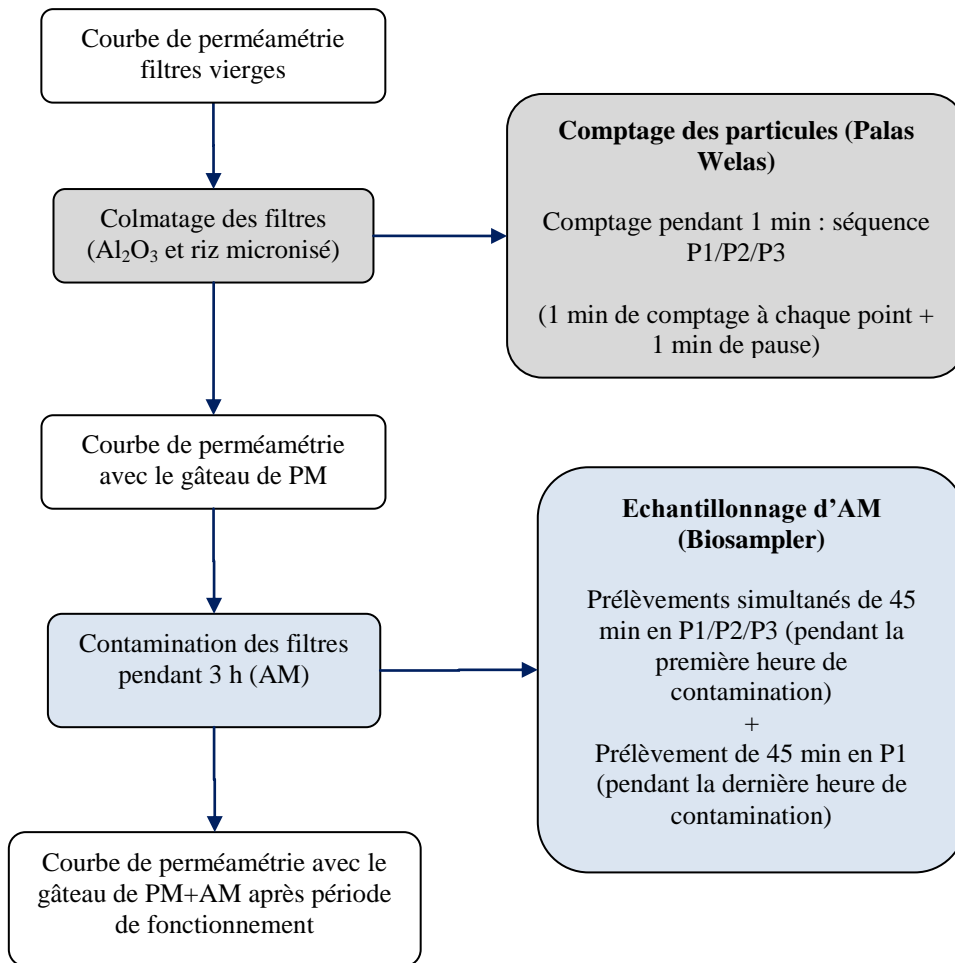


Figure 3-12. Protocole de colmatage et contamination des filtres.

III.3.2. Principe d'échantillonnage des filtres

Les filtres récupérés de la mini CTA ont été analysés d'un point de vue microbiologique. Pour ceci, un protocole d'échantillonnage a été mis au point. Un schéma de l'échantillonnage réalisé pour les filtres G4 est présenté sur la **Figure 3-13**. Dans le cas des témoins positifs,

¹⁹ Courbe de perméamétrie : lecture de la ΔP des filtres associée à différents vitesses de filtration (v_f vs ΔP)

pour le filtre G4 plan plissé à $t=3j$, un pli a été extrait. Le pli a été ensuite coupé en trois parties : le haut, le centre et le bas. Les échantillons haut et bas ont été analysés en microbiologie (cf. Protocole d'extraction, Chapitre 2). Le centre du pli n'a suivi aucun traitement, du fait que ce pli se trouvait juste derrière la buse de prélèvement qui perturbe significativement l'écoulement comme indiqué dans la validation aéraulique du banc. Le reste du filtre a été placé dans l'enceinte hermétique. Après incubation dans l'enceinte hermétique ($t=10j$ ou $25j$), le filtre est récupéré et il suit un nouvel échantillonnage. Quatre échantillons sont récupérés pour analyses microbiologiques. Deux d'entre eux correspondent au centre, un en haut et un en bas. Pour le filtre G4 de l'essai **CF1**, quatre échantillons ont été analysés en microbiologie à la fin de l'essai.

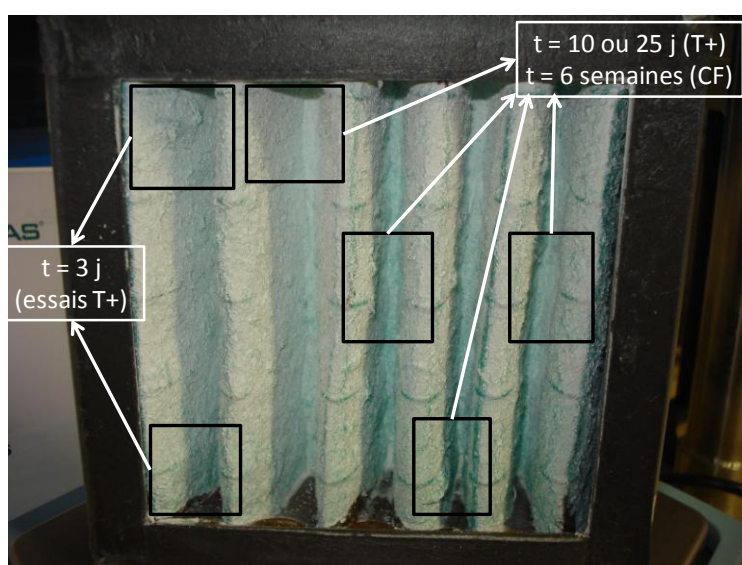


Figure 3-13. Procédure d'échantillonnage pour les filtres G4 plan plissés.

Pour les filtres F7 et F9 à poches, contenant deux poches, les analyses microbiologiques ont été réalisées sur la partie centrale de la poche (par rapport au haut et au bas de la canalisation). Pour les témoins positifs, à $t = 3j$, la poche gauche a été récupérée, notamment la bandelette du milieu. Trois parties ont été extraites : l'entrée, le centre et le fond de la poche, comme présenté dans la **Figure 3-14**. Cet échantillonnage comprenait l'intérieur et l'extérieur de la poche. Après incubation dans la boîte hermétique, la poche droite a été analysée en microbiologie. Le même principe d'échantillonnage a été suivi (cf. **Figure 3-15**). Pour les tests **CF**, le même principe d'échantillonnage a été suivi.



Figure 3-14. Procédure d'échantillonnage à $t = 3$ j des filtres à poches. Echantillonnage de la poche gauche.

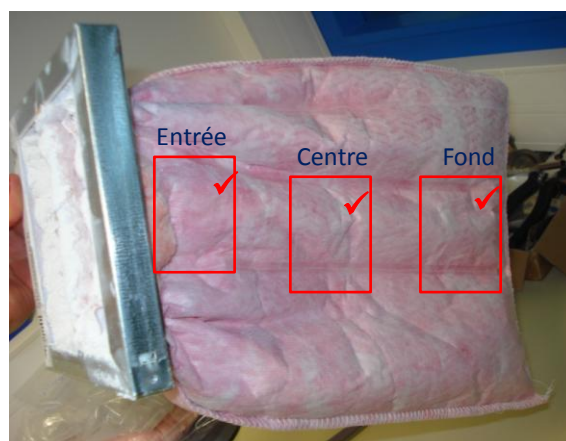


Figure 3-15. Procédure d'échantillonnage après incubation, à $t = 10$ ou 25 j des filtres à poches. Echantillonnage de la poche droite.

Certaines contraintes ont été observées lors de l'application de ce protocole d'échantillonnage des filtres. Concernant le filtre G4, un fil métallique qui le renforce et assure la forme des plis complique le découpage des plis. Une perte d'environ 5% de la masse collectée du filtre a été mesurée après découpage des plis. Concernant le filtre à poches, le découpage a été plus simple conduisant vraisemblablement à une perte de masse moins importante (mais non quantifiée).

IV. Résultats et discussion

Cette partie débute par une discussion sur les conditions de colmatage des filtres de la mini CTA pour chaque test, en termes d'humidité relative, des ratios $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{Riz}$ générés, des concentrations d'aérosols générées, entre autres. Les adaptations du protocole qui ont dûes être réalisées sont également exposées. Ensuite, les performances de filtration vis-à-vis des particules et des aérosols microbiens sont étudiées ainsi que le comportement des microorganismes en surface des filtres.

IV.1. Conditions de colmatage et de contamination des filtres

IV.1.1. Conditions climatiques

Un résumé des conditions climatiques dans la mini CTA (humidité relative HR et température) est présenté dans le **Tableau 3-5**, pendant le colmatage avec les particules et pendant la contamination des filtres par les aérosols microbiens.

Concernant les essais **T+1** et **T+2**, pendant le colmatage des particules, il n'y a pas eu de régulation de l'humidité. L'humidité dans la mini CTA a diminué jusqu'à une valeur de 8% du fait que l'air comprimé utilisé pour la génération était de l'air sec. L'humidité moyenne pour ces deux essais était de 9%. L'utilisation d'air sec pour générer les particules avait pour objectif d'éviter une possible agglomération des particules chargées en humidité. Pour ces deux essais témoins positifs, pendant la nébulisation du consortium microbien, l'humidité de consigne a été définie à 90% afin de garantir de bonnes conditions d'humidité et minimiser au maximum un possible effet de la génération sur la viabilité des microorganismes. L'HR moyenne a été donc d'environ 80%. Les courbes d'évolution de la perte de charge en fonction du temps, qui seront présentées plus loin dans ce chapitre, montrent que cette différence d'humidité (9% pour la génération des particules, puis 80% pour les aérosols microbiens) provoque une brusque chute de la perte de charge des filtres colmatés pendant la nébulisation du consortium microbien (cf. **Figure 3-22**). En conséquence, pour la deuxième série des témoins positifs, l'humidité dans le banc était réglée à 60% pendant la génération des particules.

Pour la deuxième série d'essais témoins positifs, **T+1bis** et **T2+bis**, la régulation d'HR était fixée à 60% pendant la génération de particules et à 90% pour la génération de microorganismes. Des HR moyennes d'environ 45 % ont été observées pendant le colmatage avec les particules. Aucun effet significatif de l'HR n'a été observé sur la granulométrie des particules utilisées. Pendant la génération de l'aérosol microbien, une HR moyenne de 88% a été atteinte. Les courbes d'évolution de la perte de charge (cf. **Figure 3-22**) en fonction du temps, montrent tout de même une chute de la perte de charge des filtres colmatés pendant la nébulisation du consortium microbien, mais moins importante que celle observée précédemment.

Pour les essais **CF1** et **CF2**, la consigne de régulation d'HR était fixée à 60%. Lors de la génération de particules, l'HR moyenne était d'environ 40%, et d'environ 85% pendant la génération microbienne.

Tableau 3-5. Conditions climatiques pendant la phase de colmatage/contamination des filtres (AM : aérosol microbien)

	Essai	Colmatage par des particules			Contamination par des AM		
		HR (%) consigne	HR _{mov} (%) (HR _{min} - HR _{max})	T _{moy} (°C)	HR (%) consigne	HR _{mov} (%) (HR _{min} - HR _{max})	T _{moy} (°C)
Configuration 1	T+ 1	Sans consigne	9 (8-24)	21-24	90	80 (11-90)	22 - 23
	T+1 bis	60	43 (34-61)	22 - 23	90	88 (58 - 91)	23
	CF1	60	41 (37 - 47)	22 - 23	60	86 (72 - 89)	23
Configuration 2	T+ 2	Sans consigne	9 (8-18)	22 - 24	90	81 (9-90)	23
	T+2 bis	60	45 (40-55)	23 -24	90	88 (61 - 90)	24
	CF2	60	37 (25-51)	22 - 24	60	85 (61-89)	24

Dans tous les cas, la température dans le banc était comprise entre 22 et 24°C.

IV.1.2. Ratios générés - Al₂O₃ : Riz

Dans un premier temps, il a été décidé de colmater les filtres avec un ratio massique de particules généré d'alumine par rapport au riz micronisé Al₂O₃/Riz de 4 (c'est-à-dire 80% d'alumine et 20% de riz). La littérature sur la composition chimique des aérosols urbains de type PM10 montre que la fraction inorganique/organique peut être très variable. Putaud *et al.* (2010) ont trouvé que la fraction organique peut être comprise entre 18 et 26 % pour des aérosols urbains PM10 de plusieurs villes en Europe. Générer un aérosol ayant une proportion de 20% de riz micronisé était donc un choix justifié. De plus, l'alumine est une poudre classique qui a été étudiée auparavant pour le colmatage des filtres fibreux (Joubert, A., 2010; Lorimier, 2005). En conséquence, la fraction inorganique a été privilégiée pour la première série d'essais témoins positifs. Pour rappel, le cahier des charges impose un colmatage des filtres jusqu'à une perte de charge équivalente à 50% de la valeur maximale préconisée par le fabricant pour le premier étage de filtration, afin d'étudier les filtres à demi vie. Ceci signifie que la perte de charge visée était de 125 Pa pour le G4 et de 225 Pa pour le F7 pour le débit nominal de filtration considéré (140 m³/h dans la mini CTA).

Les premiers témoins positifs, **T+1** et **T+2**, ont été colmatés avec les particules d'alumine, jusqu'à une perte de charge très proche à celle visée. Lorsque le colmatage avec les particules du riz micronisé a commencé, la ΔP a augmenté rapidement en dépassant largement la valeur visée (cf. **Figure 3-22**). En conséquence, la génération du riz a été très courte. Une quantité d' Al_2O_3 très élevée par rapport à celle du riz a été générée pour ces deux témoins, comme présenté dans le **Tableau 3-6**, qui présente les ratios Al_2O_3 /Riz générés.

Ces valeurs sont calculées à partir de la pesée du piston du générateur chargé avec les particules, et le piston après génération. Il est important de souligner que le colmatage des filtres s'est réalisé sur plusieurs heures, donc pour plusieurs pistons de particules (1 piston permettait approximativement 1 h de génération). Le ratio Al_2O_3 /Riz a donc été de 15 et 26 pour **T+1** et **T+2** respectivement. Ceci, a influencé la concentration de microorganismes sur les filtres, du fait qu'il y avait très peu de matière organique disponible pour leur croissance. Ces résultats microbiologiques seront présentés et discutés ci-après (cf. Section IV.6 de ce chapitre).

Tableau 3-6. Masses générées d'alumine et de riz micronisé

		Al_2O_3 (g)	Riz (g)	Total généré (g)	Ratio généré Al_2O_3 /Riz
Configuration 1	T + 1	$10,3 \pm 0,1$	$0,7 \pm 0,02$	$11,0 \pm 0,1$	15
	T + 1 bis	$3,6 \pm 0,04$	$3,4 \pm 0,02$	$7,0 \pm 0,1$	1,1
	CF1	$4,2 \pm 0,04$	$3,0 \pm 0,02$	$7,1 \pm 0,1$	1,4
Configuration 2	T + 2	$37,1 \pm 0,3$	$1,4 \pm 0,02$	$38,5 \pm 0,3$	26
	T + 2 bis	$10,9 \pm 0,1$	$19,4 \pm 0,1$	$30,3 \pm 0,2$	0,6
	CF2	$12,1 \pm 0,1$	$14,6 \pm 0,1$	$26,7 \pm 0,2$	0,8

Rq : Les incertitudes présentées correspondent à l'incertitude élargie de la mesure.

Pour la deuxième série des témoins positifs, **T1 + bis** et **T2 + bis**, il a été décidé de colmater les filtres avec un ratio généré de particules d'alumine par rapport au riz micronisé de 1 (c'est-à-dire 50% en masse de chaque type de particules). Ce choix est justifié aussi d'après la littérature, qui démontre qu'il existe une grande variabilité de composition chimique des aérosols urbains. La matière organique semble être le principal contributeur individuel à la concentration moyenne annuelle en masse des $PM_{2,5}$ et des PM_{10} (Putaud *et al.*, 2004). De plus, Zhang *et al.* (2007) montre que la fraction organique des aérosols submicroniques peut atteindre jusqu'à 70% pour des aérosols urbains de plusieurs villes situées dans l'hémisphère nord. En conséquence, pour ces deux tests, un ratio Al_2O_3 /Riz de 1,1 et 0,6 a été généré pour

T1 + bis et **T2 + bis** respectivement. Ce ratio généré a permis d'augmenter la fraction organique du gâteau des particules. Il a été décidé de répéter les ratios générés de chaque configuration, pour les essais **CF1** et **CF2**. Un ratio de 1,4 et 0,8 a été obtenu pour les essais **CF1** et **CF2** respectivement.

IV.1.3. Concentration et distribution granulométrique des particules d'alumine et du riz micronisé

Les concentrations moyennes en amont des filtres, en nombre (C_N) et en masse (C_M), des particules d' Al_2O_3 et du riz micronisé sont présentés dans le **Tableau 3-7** pour chaque essai. Pour rappel, la gamme de mesure pour l' Al_2O_3 est comprise entre 0,2 et 10 μm . Pour le riz micronisé, elle est comprise entre 0,2 et 40 μm . Pour le calcul des concentrations en masse, la procédure a été la suivante :

- Des concentrations volumiques ont été estimées pour chaque classe i , à partir des concentrations en nombre C_{N-i} . Pour ceci, les particules ont été considérées comme ayant une forme sphérique de diamètre d_p . Ce diamètre correspond au centre de la classe i .
- Des concentrations massiques par classe C_{M-i} , ont été ensuite calculées grâce aux valeurs des masses volumiques réelles estimées au laboratoire. Pour rappel, elles sont de 3950 kg/m^3 pour l' Al_2O_3 et de 1770 kg/m^3 pour le riz.
- Enfin, la concentration globale massique C_M est estimée comme la somme de toutes les C_{M-i} .

Les concentrations présentées dans le **Tableau 3-7** sont des concentrations moyennes sur la durée de l'essai, et l'incertitude associée correspond à l'écart type. Il est important de remarquer que les essais se sont poursuivis sur plusieurs heures, ce qui signifie plusieurs recharges du piston du générateur. Au début de chaque recharge, la concentration des particules n'était pas stable. Ainsi, les valeurs des 10 premières minutes de chaque piston n'ont pas été prises en compte pour le calcul de ces valeurs moyennes. Après environ 20 min, la concentration se stabilise. Néanmoins, la concentration des particules varie d'environ $\pm 30\%$ par rapport à la valeur moyenne mesurée.

Pour les essais **T+1** et **T+2**, la concentration de particules d' Al_2O_3 est d'environ 44000 part/cm³. La concentration de riz est d'environ 50000 et 22600 part/cm³ pour **T+1** et **T+2** respectivement. Ces concentrations de riz sont particulièrement élevées par rapport à celles des essais suivants, probablement dû au fait que c'était le tout début de la génération. Il avait déjà été observé auparavant, sur des durées plus longues de génération de riz, que la concentration est élevée (de l'ordre de 20000 - 50000 part/cm³) en début de génération et après elle diminue pour se stabiliser (de l'ordre de 2000 part/cm³). Pour les particules d'alumine, cette variation entre le début et la fin de génération est moins marquée et l'effet observé est inverse. La concentration initiale est de l'ordre de 30000 part/cm³, et elle se stabilise aux alentours de 45000 part/cm³. Cette différence pourrait s'expliquer par la différence de nature entre les deux types de particules, dont la dureté, et probablement différents phénomènes de compression du lit de particules dans le réservoir du générateur, qui n'ont pas été étudiés dans ces travaux.

L'essai **T1+bis** n'est pas présenté car le suivi de la concentration des particules n'a pas pu être réalisé, pour des raisons techniques. Pour **T+2 bis**, **CF1** et **CF2**, la concentration d' Al_2O_3 et du riz est d'environ 57000 – 70000 part/cm³ et 2000 – 5500 part/cm³, respectivement.

Tableau 3-7. Résumé de la concentration d' Al_2O_3 et du riz micronisé pour chaque essai.

Essai	Al_2O_3			Riz		
	C_N (part/cm ³)	C_M (µg/m ³)	Nombre de mesures ^c	C_N (part/cm ³)	C_M (µg/m ³)	Nombre de mesures ^c
T + 1	44500 ± 13700	33300 ± 11600	38	50000 ^a	370000 ^a	1
CF1	69600 ± 12800	67500 ± 10350	10	5500 ± 1750	84600 ± 22450	8
T + 2	43000 ± 10900	34800 ± 14000	105	22600 ± 10000 ^b	401000 ± 6150 ^b	2
T + 2 bis	62750 ± 11400	60900 ± 11450	25	2050 ± 850	58000 ± 11600	37
CF2	56800 ± 13000	55200 ± 11700	30	3750 ± 1500	46500 ± 18000	30

^a Ces valeurs ne présentent pas d'incertitude associée du fait que très peu de riz micronisé a été généré.

^b Ces incertitudes équivalent aux valeurs maximale et minimale observées des deux mesures.

^c Chaque mesure correspond à 1 min de comptage.

La distribution granulométrique des particules a été également suivie tout au long du colmatage pour chaque essai. Les résultats ont révélé que cette répartition granulométrique reste relativement stable pour de longues durées de génération, notamment pour les particules

d'alumine. Pour observer graphiquement ceci, deux essais de longue durée ont été choisis pour comparer la granulométrie des particules en nombre. L'essai **T+2** correspond à la génération de particules d' Al_2O_3 la plus longue, avec une durée d'environ 830 min. Le suivi de la granulométrie, exprimée en concentration en nombre normalisée, est présenté sur la **Figure 3-16**, à 5 moments différents de la génération choisis de manière arbitraire entre le début et la fin. L'écart entre ces 5 mesures est inférieur à 14% par rapport à la valeur moyenne de ces 5 séries, quelle que soit la taille de particules donnée. Il est possible donc de conclure que la granulométrie d'alumine reste relativement stable sur de longues durées de génération.

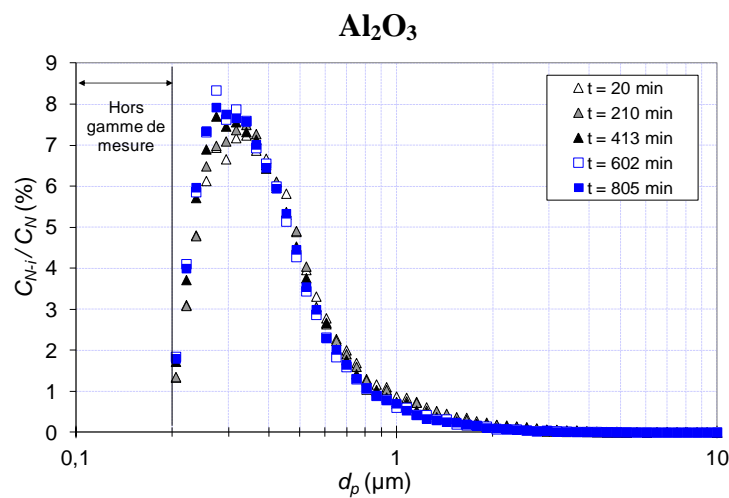


Figure 3-16. Suivi de la distribution granulométrique des particules d' Al_2O_3 pour l'essai **T+2**.

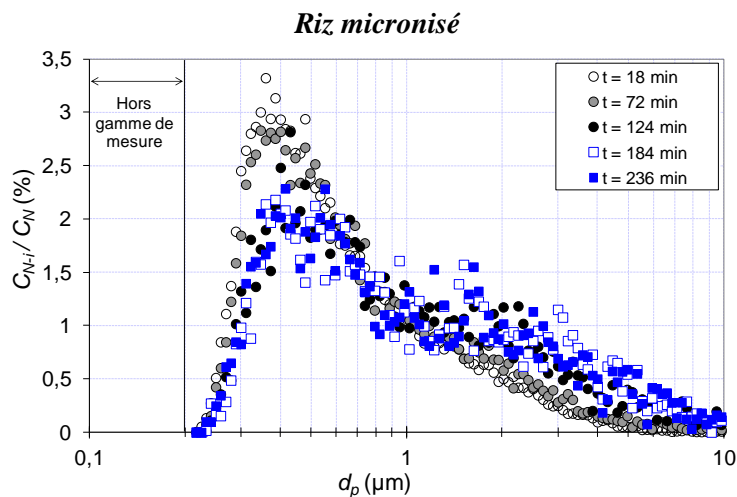


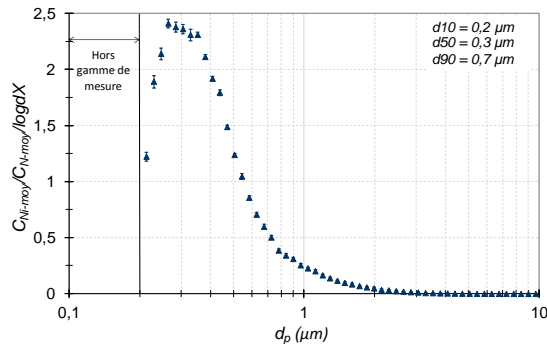
Figure 3-17. Suivi de la distribution granulométrique des particules de riz micronisé pour l'essai **CF2**.

Pour l'essai **CF2**, le riz micronisé a été généré pendant environ 230 min. Le suivi de la distribution granulométrique est présenté sur la **Figure 3-17** à 5 moments différents de la génération. Il en ressort qu'au début de la génération (minute 18), ce sont les particules fines inférieures à 0,5 μm qui prédominent et elles représentent environ 45% de la répartition. Il y a un deuxième pic aux alentours d'1 μm et très peu de particules supérieures à 3 μm (moins de 2%). A la fin de la génération, les particules inférieures à 0,5 μm représentent environ le 30% de la distribution. Le deuxième pic est légèrement décalé vers les grosses particules, et il se trouve que les particules supérieures à 3 μm représentent 10% de la distribution. Pour les particules d'environ 0,5 μm , l'écart maximal est de 15% par rapport à la moyenne des 5 mesures. Pour les particules de 3 μm , l'écart maximal est de 50% par rapport à la moyenne. La distribution granulométrique de riz micronisé présente donc de variations importantes, notamment pour les particules supérieures à 3 μm .

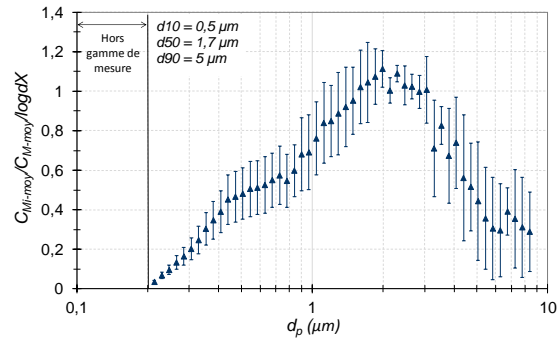
Il est à noter que dans le cas des CTA à pleine échelle il y a également une énorme variabilité de la concentration et de la granulométrie des aérosols présents dans l'air urbain.

Des essais dédiés à la caractérisation des aérosols pour des conditions plus stables, sans filtres, ont été menés dans la mini CTA. Les distributions granulométriques en nombre et en masse sont présentées dans les **Figure 3-18** et **3-19** pour l' Al_2O_3 et pour le riz micronisé respectivement. Ces répartitions granulométriques correspondent aux valeurs moyennes sur 4 essais sur une durée de 15 à 60 min, pour des conditions de génération stables, 30 min après le début de la génération (temps de discrétisation du compteur : 1 min). Les barres d'incertitude correspondent aux valeurs maximales et minimales observées. Cette distribution est exprimée avec les concentrations moyennes pour une taille de particules donnée normalisées par la concentration moyenne totale, et normalisée par la taille des différentes classes. Pour l'alumine, les diamètres médians en nombre et en masse sont de 0,3 et 1,7 μm respectivement. Pour le riz micronisé, les diamètres médians en nombre et en masse sont de 0,6 et 7,5 μm . L'alumine présente une distribution mono modale, tandis que le riz présente une distribution bimodale en nombre.

Al_2O_3



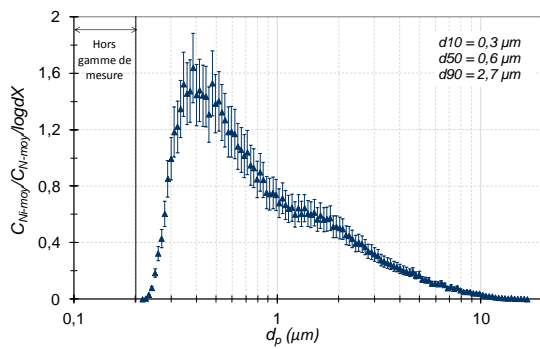
(a) En nombre



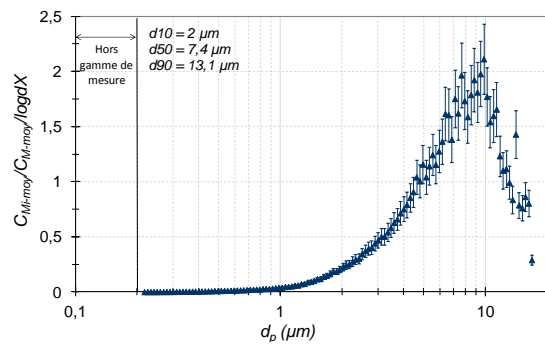
(b) En masse

Figure 3-18. Distribution granulométrique des particules d' Al_2O_3 .

Riz micronisé



(a) En nombre



(b) En masse

Figure 3-19. Distribution granulométrique des particules de riz micronisé.

Le diamètre aérodynamique d_{ae} des particules a également été calculé. Pour les particules d'alumine, une valeur de d_{50} égale respectivement à 0,7 μm et 3,4 μm en nombre et en masse a été estimée. Pour les particules de riz, un d_{ae} de 0,8 et 8,8 μm respectivement en nombre et en masse a été trouvé. En conclusion, les particules d'alumine présentent des diamètres aérodynamiques inférieurs à 10 μm (PM10) que ce soit en nombre ou en masse. Le riz micronisé comprend une fraction majoritaire PM10 en nombre, et en masse il présente des particules jusqu'à 20 μm . Le riz présente une distribution en nombre bimodale alors que l'alumine est monomodale.

IV.2. Concentration générée et distribution granulométrique du consortium microbien

Concernant les aérosols microbiens, les concentrations UFC mesurées à partir des fractions collectées par le dispositif Biosampler en amont des filtres (**P1**) sont présentées sur la **Figure 3-20**. Ces concentrations correspondent à la valeur moyenne sur deux mesures, une réalisée au début et l'autre à la fin de la nébulisation du consortium. La durée de chaque prélèvement $t_{\text{prélèvement}}$ est de 45 min. Le liquide récupéré dans le Biosampler est immédiatement étalé sur des boîtes de Petri pour réaliser un comptage des UFC. Trois étalements d'1 mL sont réalisés sur les boîtes, ce qui permet d'obtenir la concentration moyenne des microorganismes dans le liquide C_{liquide} . La concentration de microorganismes dans l'air $C_{\text{μbio}}$ est calculée en prenant en compte le volume du liquide (V_L) dans le Biosampler à la fin du prélèvement et le volume d'air échantillonné $V_{\text{prélevé}}$ qui est fonction du débit $Q_{\text{Biosampler}}$ et du temps de prélèvement $t_{\text{prélèvement}}$. Les équations suivantes sont utilisées pour calculer $C_{\text{μbio}}$:

$$C_{\text{μbio}} \left(\frac{\text{UFC}}{\text{m}^3} \right) = \frac{C_{\text{liquide}} \left(\frac{\text{UFC}}{\text{mL}} \right) \times V_L (\text{mL})}{V_{\text{prélevé}} (\text{m}^3)} ; V_{\text{prélevé}} (\text{m}^3) = Q_{\text{Biosampler}} \left(\frac{\text{L}}{\text{min}} \right) \times t_{\text{prélèvement}} (\text{min}) \times \left(\frac{1 \text{m}^3}{1000 \text{L}} \right)$$

Eq. 3-2

Les barres d'incertitude sur le graph représentent les valeurs maximales et minimales observées. Les concentrations de *B. subtilis* en amont des filtres sont de l'ordre de 10^5 UFC/m³, pour les témoins positifs. Pour **CF1** et **CF2** la concentration est de l'ordre de 10^4 UFC/m³ et 10^3 UFC/m³ respectivement. Pour comprendre ces différences, il faut analyser les concentrations théoriques calculées à partir de la concentration des microorganismes dans la suspension (consortium) générée (présentées sur les **Figure 3-34** et **3 -35**). La concentration théorique de *B. subtilis* est d'environ 10^6 UFC/m³ pour tous les essais, sauf pour **CF2** où la concentration était d'environ 10^5 UFC/m³. Ceci pourrait expliquer le fait que la concentration pour **CF2** en amont des filtres est plus faible que les autres. Pour *A. niger*, la concentration mesurée est d'environ 10^3 UFC/m³ pour tous les essais. La concentration théorique est de l'ordre de 10^4 UFC/m³ pour tous les essais sauf pour **CF1** qui est d'environ 10^5 UFC/m³.

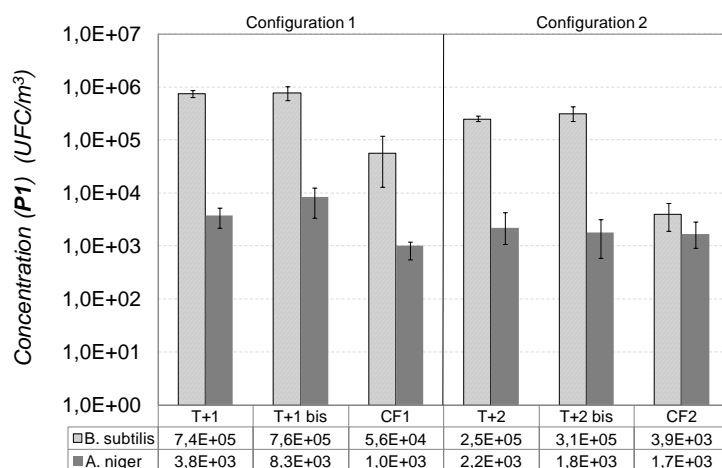


Figure 3-20. Concentrations des aérosols microbiens mesurées en amont des filtres (**P1**) pour chaque essai.

Les barres d'incertitude présentées, suggèrent que la concentration en amont des filtres est relativement stable sur la durée totale de la génération microbienne qui est de 3 h.

Des essais de caractérisation de l'aérosol microbien par comptage optique ont été réalisés dans la mini CTA. La distribution granulométrique de l'aérosol microbien est présentée sur la Figure 3-21. Pour obtenir cette distribution, deux tests de caractérisation ont été réalisés. Dans un premier temps, le consortium a été généré et le comptage optique à l'aide du compteur Palas Welas a été réalisé. Il est important de remarquer que ce consortium microbien contient les spores fongiques et les endospores bactériennes qui sont récupérées dans des solutions physiologiques de $MgSO_4$ et de $NaCl$ respectivement. Dans un deuxième temps, une solution sans microorganismes (blanc), a été générée dans le banc et caractérisée par comptage optique. La distribution granulométrique a été corrigée par rapport à la distribution de la solution « blanc », et elle est présentée sur la **Figure 3-21**.

Cette distribution normalisée par la taille des classes, correspond à une valeur moyenne sur une durée de 20 min (temps de discrétisation : 1 min). Les barres d'incertitude correspondent aux valeurs maximales et minimales observées sur la durée de l'essai. Une distribution bimodale est obtenue avec un premier pic vers $0,3 \mu m$ et un second entre $0,4 - 0,5 \mu m$. Ces tailles ne sont pas en concordance avec la taille des microorganismes reportée dans la littérature. Pour rappel, la littérature reporte une taille comprise entre 3 et $5 \mu m$ pour *A. niger* et entre $0,5$ et $1,8 \mu m$ pour *B. subtilis* (diamètres aérodynamiques).

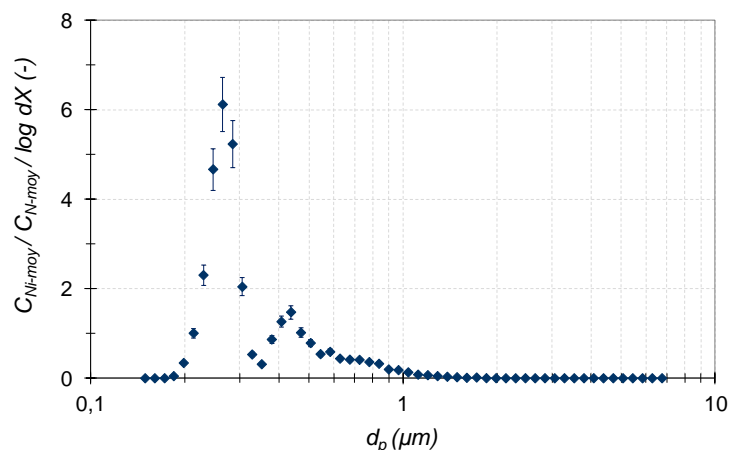


Figure 3-21. Distribution granulométrique de l'aérosol microbien

Au regard de nombreuses particules inférieures à $0,4 \mu\text{m}$, cette distribution granulométrique suggère la présence de débris microbiens, probablement du fait de la nébulisation. La caractérisation des microorganismes est difficile et elle n'a pas pu être réalisée dans ces travaux avec le compteur optique utilisé. Probablement les conditions de forte humidité pendant la nébulisation des microorganismes, empêchent d'avoir une observation de spores microbiennes dans la gamme de taille attendue. De plus, les spores fongiques sont connues pour avoir certaine hydrophobicité, ce qui probablement rend difficile leur caractérisation. La concentration du consortium généré (microorganismes et solutions physiologiques), est d'environ $4250 \pm 200 \text{ part/cm}^3$, ce qui correspond à une variation de $\pm 5\%$. La concentration sur les 20 min d'observation est assez stable, et en concordance avec la concentration en UFC/cm³, il est possible de conclure que la génération microbienne est stable sur la durée de contamination des filtres qui est de 3 h.

IV.3. Evolution de la perte de charge en fonction du temps

La perte de charge initiale (ΔP_0) des filtres prototypes étudiés est présentée dans le **Tableau 3-8**. Pour les filtres G4 placés en premier étage pour les essais **T+1**, **T+1 bis** et **CF1**, la ΔP_0 est comprise entre 43 et 50 Pa. A titre de comparaison, pour les filtres industriels, la perte de charge (ΔP) nominale donnée par le fabricant est de 60 Pa pour un débit de $3400 \text{ m}^3/\text{h}$ (vitesse débitante de 2,7 m/s, vitesse de filtration respectivement de 0,7 m/s et 0,1 m/s pour les filtres plissés G4 et à poches). Les filtres prototypes présentent donc une ΔP comparable à celle des filtres industriels. La ΔP finale de colmatage visée pour ces filtres est de 125 Pa, qui correspond à un demi de la ΔP maximale conseillée par le fabricant.

Tableau 3-8. Pertes de charges initiales des filtres étudiées pour un débit de 140 m³/h dans la mini CTA (vitesse débitante de 2,7 m/s).

Essai	ΔP_0 Filtre G4 (Pa)	ΔP_0 Filtre F7 (Pa)		Essai	ΔP_0 Filtre F7 (Pa)	ΔP_0 Filtre F9 (Pa)
T + 1	50	113		T + 2	110	130
T + 1 bis	48	112		T + 2 bis	112	116
CF1	43	83		CF2	107	131

La ΔP_0 pour les filtres prototypes F7, placés en premier et en deuxième étage, est comprise entre 83 et 113 Pa. Les deux poches des prototypes ont été ouvertes avant l'installation dans la mini CTA, car il a été trouvé pendant la validation aéraulique du banc, que l'ouverture des poches pouvait avoir une influence importante sur la ΔP initiale ainsi que sur le profil de l'écoulement. La ΔP nominale donnée par le fabricant est de 85 Pa pour les filtres de taille industrielle pour un débit de 3400 m³/h. Les filtres prototypes présentent des valeurs de ΔP comparables à celles des filtres industriels. La ΔP finale de colmatage visée pour ces filtres est de 225 Pa qui correspond à un demi de la ΔP maximale conseillée par le fabricant.

Pour les filtres F9 placés en deuxième étage, la ΔP_0 est comprise entre 116 et 131 Pa. Ces prototypes présentent une ΔP légèrement plus importante par rapport aux filtres F7. La ΔP_0 nominale donnée par le fabricant, pour cette référence des filtres est de 130 Pa pour un débit de 3400 m³/h. Cette différence entre filtres prototypes et industriels est plus importante.

Les valeurs du ratio $\Delta P/\Delta P_0$ sont présentées dans le **Tableau 3-9**, pour les filtres placés en premier étage à la fin de chaque étape de colmatage avec les particules et avec les aérosols microbiens (AM). L'évolution de la perte de charge normalisée par rapport à sa valeur initiale, ($\Delta P/\Delta P_0$ ou dP/dP_0), pour les filtres G4 placés en premier étage, est présentée sur la **Figure 3-22**.

Tableau 3-9. Evolution de la perte de charge des filtres placés en premier étage avec les différents aérosols

Essai	Filtre en premier étage	$\Delta P/\Delta P_0$ visé	$\Delta P/\Delta P_0$ après colmatage avec Al ₂ O ₃	$\Delta P/\Delta P_0$ après colmatage avec le riz	$\Delta P/\Delta P_0$ après contamination par les AM
T + 1	G4	2,5	2,4	4,4	2,5
T + 1 bis	G4	2,6	1,6	3,9	2,9
CF1	G4	2,9	1,8	4,6	3,6
T + 2	F7	2,0	1,9	2,1	1,6
T + 2 bis	F7	2,0	1,2	1,5	1,4
CF2	F7	2,1	1,4	2,1	1,7

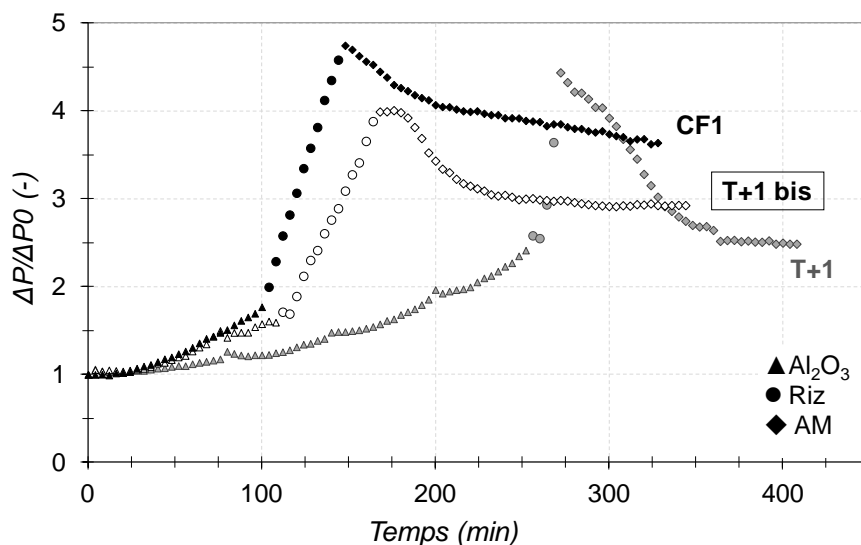


Figure 3-22. Evolution de la perte de charge ($\Delta P / \Delta P_0$) en fonction du temps, pour les filtres G4 en premier étage.

Une augmentation rapide de la ΔP est évidente pour les trois essais, lors de la génération de riz micronisé. Un saut est observé lors du changement de particules de colmatage.

Ce changement de tendance d'évolution de la ΔP peut s'expliquer par l'effet combiné de :

- la différence de nature et morphologie des deux types de particules par exemple en termes de la sphéricité, la composition chimique, les charges électriques, etc.,
- la granulométrie bimodale du riz micronisé qui présente un diamètre médian plus important que celui de l'alumine, mais aussi elle met en évidence une fraction importante de particules fines au début de la génération, aux alentours de 0,3-0,6 μm .

A noter que le degré de colmatage et en conséquence la composition du gâteau des particules préalablement établi (matrice Al_2O_3 – riz – eau retenue) semblent participer au changement de tendance de ΔP lors de la génération du riz. La rapidité d'évolution de ΔP pour l'essai **T+1** est plus importante que pour les autres deux essais probablement du fait que ce filtre **G4-T+1** était à un niveau de colmatage plus important. Cette réflexion suggère que le fait de changer de type de particules pour le colmatage des filtres, modifie les interactions entre les fibres, les particules d'alumine, l'eau retenue sur le filtre et les particules de riz qui viennent se collecter sur le gâteau.

Enfin, une diminution rapide de la ΔP est observée pour les trois essais lors de la génération des aérosols microbiens. Cette chute de la ΔP , peut s'expliquer par le fait de la génération

microbienne par nébulisation, ce qui fait augmenter l'humidité jusqu'à 80% comme indiqué dans le **Tableau 3-5**. Cette forte humidité peut provoquer un réarrangement du gâteau des particules retenues sur les filtres, ainsi qu'un phénomène de rétention d'eau par le gâteau et les fibres du filtre. Cet effet de l'humidité sur la perte de charge d'un filtre colmaté a été observé dans la littérature par Joubert (2009). L'effet de l'humidité relative sur la ΔP est légèrement atténué pour les essais **T1+bis** et **CF1**, où le colmatage préalable des filtres par les particules a été réalisé à humidité régulée ($HR_{\text{moy}} = 43\%$).

L'objectif de colmater les filtres à $\frac{1}{2}$ de la ΔP maximale conseillée par le fabricant, a été atteint pour l'essai **T+1**. Pour l'essai **T+1bis** la ΔP finale est légèrement au dessus de celle visée. Pour **CF1**, la ΔP finale est nettement au dessus de celle visée indiquant que ce filtre a un niveau de colmatage plus important. Il est possible d'observer certaine répétabilité entre les essais **T+1 bis** et **CF1** concernant le colmatage par de particules d'alumine

L'évolution du ratio $\Delta P/\Delta P_0$ pour les filtres F7 placés en deuxième étage est présentée sur la **Figure 3-23**. Il est possible d'observer que la ΔP des filtres F7 n'évolue pas significativement.

Pour l'essai **T+1**, l'évolution de la ΔP est complètement négligeable, que ce soit pour les particules comme pour les aérosols microbiens. Pour les essais **T+1bis** et **CF1** une légère augmentation de la ΔP est observée lors du colmatage avec les particules, pour atteindre un ratio $\Delta P/\Delta P_0$ de 1,1 et 1,2 respectivement. Lors de la génération de riz micronisé, la ΔP augmente progressivement mais il n'est pas observé une évolution rapide comme pour les filtres G4. La nébulisation des aérosols microbiens provoque, comme pour les filtres G4, une diminution rapide de la ΔP , pour atteindre un ratio de 1 et 1,1 pour les essais **T+1 bis** et **CF1** respectivement. Cette chute de ΔP s'explique par la forte humidité présente dans le banc lors de la nébulisation des microorganismes. Ces filtres prototypes à poches présentent une variabilité entre eux concernant leur dynamique de colmatage, probablement par le fait d'avoir leurs poches plus ou moins ouvertes ou l'hétérogénéité du media.

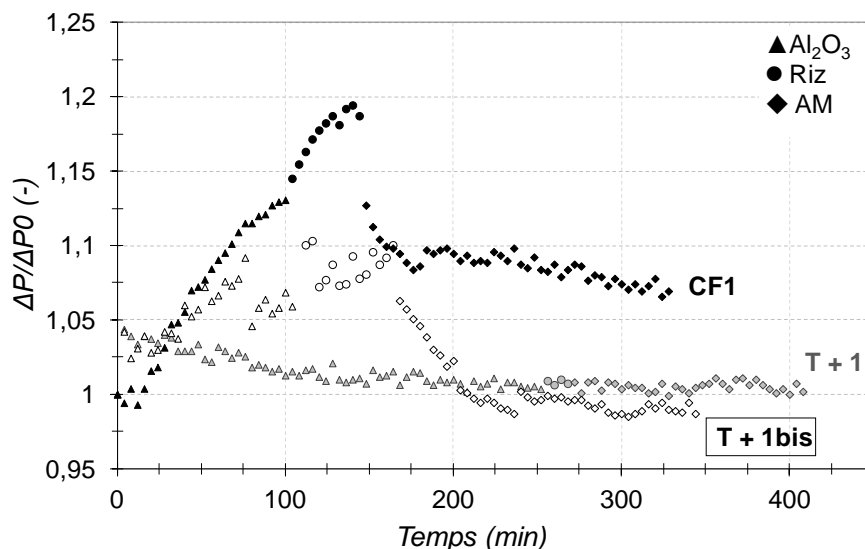


Figure 3-23. Evolution de la perte de charge ($\Delta P / \Delta P_0$) en fonction du temps, pour les filtres F7 en deuxième étage.

L'évolution de la ΔP pour les filtres F7 placés en premier étage est présentée sur la **Figure 3-24**. Pour les filtres colmatés avec l'alumine, une augmentation rapide de la ΔP est observée lors de la génération de riz micronisé, comme pour les filtres G4. Il est observé que, plus le niveau de colmatage par les particules d'alumine est important, plus l'effet du riz est important sur l'évolution de la ΔP . Par exemple, pour l'essai **T+2**, le riz provoque un changement brusque de pente indiquant une augmentation rapide de la ΔP , probablement car le niveau de colmatage était important ($\Delta P / \Delta P_0$ égal à 1,9 à la fin du colmatage avec l'alumine). Pour l'essai **T+2bis**, le riz ne provoque pas un changement marqué sur l'évolution de la ΔP probablement car le niveau de colmatage était moins important ($\Delta P / \Delta P_0$ égal à 1,2 à la fin du colmatage avec l'alumine). La nébulisation des aérosols microbiens provoque une chute de la ΔP observée pour les trois essais, comme pour les filtres G4. L'objectif de colmater les filtres à $\frac{1}{2}$ de la ΔP maximale, n'a pas été atteint du fait de la méconnaissance de l'évolution de la ΔP sur ce type des filtres et les effets combinés du changement des particules au cours de colmatage et de l'humidité relative. A noter, les durées de colmatage plus importantes par rapport à celles des essais de la configuration 1 de filtres. De même, à retenir que le filtre **F7-CF2**, présente un niveau de colmatage plus important que les autres filtres F7 en premier étage.

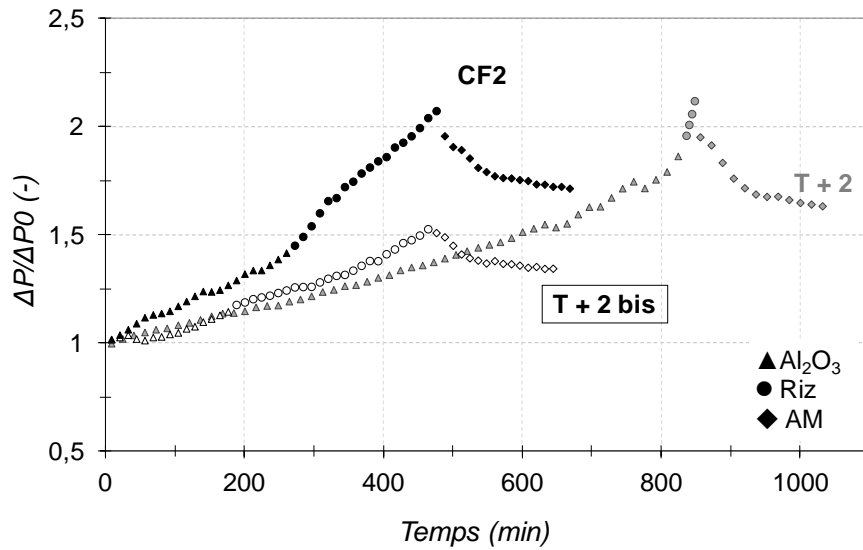


Figure 3-24. Evolution de la perte de charge ($\Delta P/\Delta P_0$) en fonction du temps, pour les filtres F7 en premier étage.

Les filtres F9 placés en deuxième étage, sont très peu colmatés. Ils atteignent un ratio $\Delta P/\Delta P_0$ maximal de 1,05 lors de la génération de particules, et regagnent le ratio initial de 1, voire inférieur à 1, lors de la génération de microorganismes. Les variations de perte de charge que ces filtres peuvent présenter peuvent être notamment dues à la capacité de rétention d'eau du média.

Afin de simplifier la lecture des graphiques, ce code de symboles va être utilisé par la suite :

▲ pour les particules d'alumine, ● pour le riz micronisé et ◆ pour l'aérosol microbien.

IV.4. Performances des filtres vis-à-vis des filtres avec des aérosols particuliers (fraction inorganique et organique)

Les courbes de performances des filtres qui sont présentées ci-après, permettent d'analyser l'évolution de la perte de charge (ΔP) et de l'efficacité des filtres en fonction de la masse des particules déposée. La procédure pour le calcul de cette masse est la suivante :

- Calcul théorique des concentrations massiques globales C_M et par classe C_{Mi} . A partir des concentrations en nombre discriminées par différentes classes de taille, comme expliqué auparavant.
- Calcul théorique de la masse retenue formant le gâteau de particules sur le filtre, pendant un intervalle de temps Δt , pour le cycle de comptage j , $M_{P,\Delta t-j}^{théo}$, à partir des données du compteur (Welas, Palas), par l'équation suivante :

$$M_{P,\Delta t-j}^{théo} (g) = [C_{M-amont} - C_{M-aval}] \left(\frac{g}{cm^3} \right) \times Q_{analyse} \left(\frac{cm^3}{min} \right) \times \Delta t_j (min)$$

Eq. 3-3

Où $Q_{analyse}$, correspond au flux dans la fenêtre d'analyse du compteur, et Δt correspond à la durée d'un cycle complet de comptage (6 min). La masse déposée est donc calculée pour chaque cycle de comptage. La masse déposée pendant le cycle de comptage j , est la somme de la masse retenue pendant les intervalles de temps précédents.

- Calcul théorique de la masse totale retenue, comme la somme de la masse retenue pour chaque cycle :

$$M_P^{théo} (g) = \sum_{j=1}^{j=N} M_{P,\Delta t-j}^{théo}$$

Eq. 3-4

Où N est le nombre total des cycles de comptage.

- Cette masse théorique a été comparée à la masse estimée expérimentalement M_P^{exp} . Pour rappel, chaque filtre a été pesé avant et après le colmatage. La différence correspond à la masse du gâteau de particules retenues sur les filtres. Il est important de souligner que cette valeur de masse du gâteau estimée expérimentalement, correspond à la présence des particules, mais aussi à la présence d'eau retenue par le filtre et par les particules. La masse déposée est corrigée linéairement par la valeur expérimentale pour chaque Δt :

$$M_{P,\Delta t}^{corrigée} = \left(\frac{M_P^{exp}}{M_P^{théo}} \right) M_{P,\Delta t}^{théo} \quad Eq. 3-5$$

Les courbes de performances sont exprimées en fonction de cette masse de particules déposées sur le filtre, corrigée par rapport à la valeur expérimentale et normalisée par la surface de filtration (nommée m_{p-capt}).

Cette correction de masse a été réalisée afin de retrouver la masse de particules mesurée expérimentalement, en prenant en compte les variations des concentrations et de l'efficacité des filtres sur la durée du colmatage. Les masses retenues sur les filtres sont présentées dans le **Tableau 3-10**.

Tableau 3-10. Masse déposée sur les filtres

Essai	Premier étage		Deuxième étage	
	Masse retenue sur le filtre (g)	Masse retenue sur le filtre par surface de filtration (g/m^2)	Masse retenue sur le filtre (g)	Masse retenue sur le filtre par surface de filtration (g/m^2)
T + 1	$5,4 \pm 0,06$	$87 \pm 0,5$	2,9	$8,4 \pm 0,5$
T+1 bis	$7,3 \pm 0,05$	$118 \pm 0,5$	$2,9 \pm 0,08$	$8,4 \pm 0,5$
CF1	$5,9 \pm 0,06$	$95 \pm 0,5$	$2,8 \pm 0,08$	$8,0 \pm 0,5$
T + 2	$29,4 \pm 0,01$	$84 \pm 0,5$	$0,6 \pm 0,2$	$1,8 \pm 0,5$
T+2 bis	$28,6 \pm 0,01$	$81,7 \pm 0,5$	$1,5 \pm 0,1$	$4,2 \pm 0,5$
CF2	$26 \pm 0,01$	$74,3 \pm 0,5$	$0,04 \pm 0,2$	$0,11 \pm 0,5$

Rq : Les valeurs présentées correspondent à la valeur mesurée \pm incertitude relative élargie de l'estimation expérimentale.

L'efficacité des filtres en nombre E_N et en masse E_M , est calculée à partir des concentrations en nombre et en masse respectivement, à partir de l'équation :

$$E = \frac{(C_{amont} - C_{aval})}{C_{amont}} \times 100 \quad \text{Eq. 3-6}$$

Cette équation est également employée pour le calcul des efficacités fractionnelles Ei , c'est-à-dire, pour chaque classe de taille i . Pour ceci, les concentrations C_{N-i} en amont et en aval du filtre, ont été utilisées pour le calcul.

IV.4.1. Evolution des efficacités globales en masse et en nombre et de la perte de charge

L'efficacité en nombre et en masse présentée sur les **Figure 3-28 à 3-30**, correspond à la valeur moyenne sur une durée de 18 min (barres d'incertitude horizontales). Les barres d'incertitude verticales correspondent aux valeurs maximales et minimales. Sur l'axe à

gauche, l'évolution de la perte de charge est présentée sous la forme du ratio $\Delta P/\Delta P_0$. Sur l'axe à droite, l'efficacité en nombre ou en masse est affichée.

Les courbes de performances des filtres **G4-T+1** et du filtre **G4-CF1** sont présentées respectivement sur les **Figure 3-28a** et **b**. Les efficacités en nombre et en masse augmentent progressivement au fur et à mesure du colmatage, comme attendu. L'efficacité vis-à-vis des particules de riz micronisé est nettement supérieure à celle vis-à-vis des particules d'alumine. Ce phénomène, obéi à la granulométrie bimodale du riz qui présente un diamètre médian plus important que celui de l'alumine. L'efficacité en nombre initiale est comprise entre 10 et 20% vis-à-vis des particules d' Al_2O_3 . A une masse déposée de 20 g/m^2 , l'efficacité en nombre est d'environ 30% pour les deux essais, ce qui suggère une certaine répétabilité entre ces deux colmatages des filtres prototypes avec les particules d'alumine.

L'effet du changement de particules au cours de colmatage, provoque un saut d'efficacité. Par exemple, pour le filtre **G4-CF1**, l'efficacité finale en nombre vis-à-vis de l'alumine est d'environ 25% et de 50% au début du colmatage avec le riz micronisé. Pour le filtre **G4-T+1**, l'efficacité en nombre était d'environ 30% à la fin de la génération d'alumine et d'environ 80% lors de la génération de riz micronisé. Il faut considérer que le niveau de colmatage n'est pas le même. Il semble, en effet que, plus le niveau de colmatage est important, plus le saut d'efficacité est important.

Les courbes de performances pour les filtres **F7 - T+1** et pour le filtre **F7 - CF1**, placés en deuxième étage, sont présentées sur les **Figure 3-29a** et **b**. L'efficacité initiale en nombre de ces filtres est d'environ 88%, vis-à-vis des particules d'alumine. L'évolution du ratio $\Delta P/\Delta P_0$ est très faible, ce qui suggère que ces filtres sont très peu colmatés. Pour le filtre **F7 - T+1** l'efficacité finale est d'environ 97% en nombre, et l'effet d'avoir changé de particules au cours du colmatage est négligeable. Pour le filtre **F7 - CF1**, lors de la génération du riz micronisé, l'évolution de la ΔP est similaire à celle du filtre F7-T+1, mais l'efficacité en nombre augmente significativement puisqu'elle est passée de 90% à la fin du colmatage avec l'alumine à 95% lors du colmatage avec le riz micronisé.

Concernant les filtres F7 placés en premier étage, les courbes de performances sont présentées sur les **Figure 3-30a** et **b**, pour **F7 - T+2** et **F7 - CF2** respectivement. L'efficacité initiale en

nombre est d'environ 85% pour les deux filtres, ce qui est comparable à celle des filtres F7 en deuxième étage. L'efficacité évolue au fur et à mesure du colmatage comme attendu. Pour **F7–CF2**, lors du changement de particules, il n'y a pas un saut de l'efficacité comme observé pour les filtres G4. L'efficacité finale pour ce filtre est d'environ 98% en nombre. Le colmatage est plus rapide lors de la génération du riz micronisé, ce qui provoque une évolution de la ΔP plus soutenue, même si l'effet est moins évident que pour les filtres G4.

La **Figure 3-25**, présente l'évolution de la ΔP vis-à-vis des particules d'alumine, pour les filtres placés en premier étage de filtration. Ceci, afin de regarder l'effet de la géométrie des filtres.

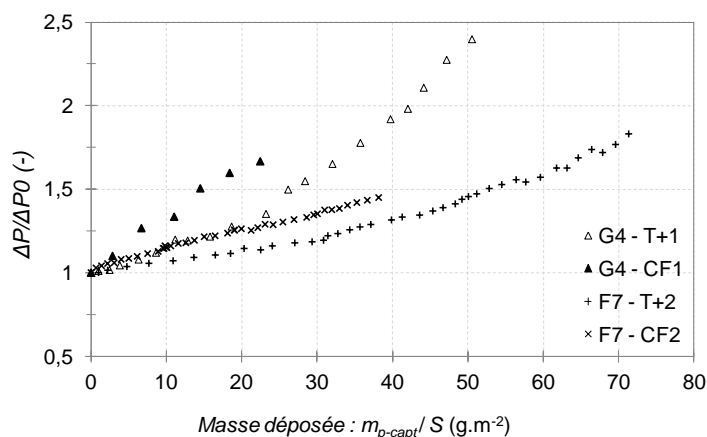


Figure 3-25. Comparaison de l'évolution de la ΔP pour les filtres G4 et F7 en premier étage de filtration – Colmatage avec les particules d' Al_2O_3 .

Il est possible d'observer que pour une même masse déposée, par exemple à 30 g/m², le filtre **G4 – T+1** présente un rapport $\Delta P/\Delta P_0$ plus important que les deux filtres F7. Il semble que l'évolution de la ΔP est plus lente pour les filtres F7 par rapport à celle pour les filtres G4. Cette légère évolution de la ΔP pourrait s'expliquer par le fait que les filtres F7 ont une surface développée 5 fois plus importante que les filtres G4, en conséquence une vitesse de filtration plus faible. Pour corroborer ou démentir cette hypothèse, des essais de colmatage de filtres plans G4 et F7, de la même nature que les prototypes de filtres de géométries industrielles, avec des particules d' Al_2O_3 , ont été réalisés²⁰. L'évolution de la ΔP est présentée sur la **Figure 3-26**. Les données présentées correspondent à de valeurs moyennes sur 3 essais et les barres d'incertitude correspondent aux valeurs maximales et minimales. Il est possible

²⁰ Travaux réalisés dans le cadre d'un stage de master par M. Kevin MORISSEAU.

d'observer que pour une même masse de particules déposée, par exemple à 40 g/m^2 , le filtre G4 est plus colmaté que le filtre F7, c'est-à-dire qu'il présente un ratio $\Delta P / \Delta P_0$ plus important. Donc, la géométrie des filtres ne semble pas être le facteur qui explique cette différence d'évolution de ΔP pour les deux types de filtres.

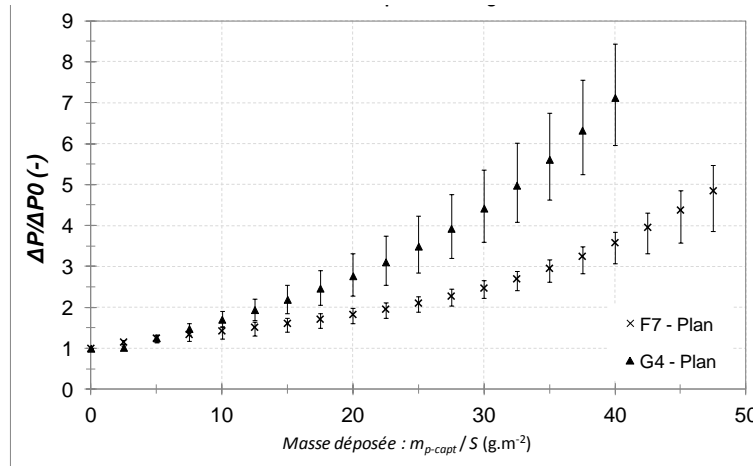


Figure 3-26. Evolution de la perte de charge pour des filtres G4 et F7 plans avec des particules d'alumine.

Des colmatages des filtres plans avec de particules de riz micronisé ont été également réalisés. Les résultats de ces expériences sont présentés sur la **Figure 3-27**. Dans ce cas, pour une même masse déposée, par exemple à 60 g/m^2 , c'est le filtre F7 qui présente un rapport $\Delta P / \Delta P_0$ supérieur à celui du filtre G4.

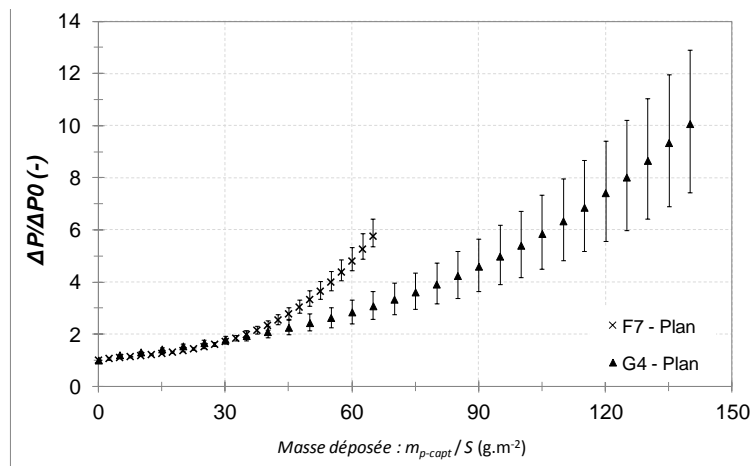


Figure 3-27. Evolution de la perte de charge pour des filtres G4 et F7 plans avec des particules de riz micronisé.

D'autres aspects comme la nature des filtres, en termes d'épaisseur de média et de diamètre de fibres, pourrait modifier les mécanismes de capture des particules sur les deux type de filtres.

Les résultats des essais **T+1 bis** et **T+2 bis** ne sont pas présentés pour des raisons techniques de comptage des particules. Ces essais ont néanmoins été exploités en termes de croissance microbienne.

IV.4.2. Efficacités fractionnelles à différents degrés de colmatage

L'efficacité fractionnelle des filtres est présentée sur les **Figure 3-31** à **3-33**. Les valeurs présentées correspondent à la valeur moyenne sur deux cycles de comptage, c'est-à-dire sur une durée de 12 min (temps de discrétisation du compteur : 1 min). Les barres d'incertitude, pour les témoins positifs, correspondent aux valeurs maximales et minimales. Pour les essais **CF1** et **CF2**, les incertitudes ne sont pas présentées car le mode de comptage employé discrimine les particules sur 116 canaux, ce qui génère un nuage de points qui peut être considéré comme une représentation de la variabilité.

Pour les filtres G4, il est possible d'observer que la zone du minimum d'efficacité (ou MPPS) se situe pour les particules inférieures à 0,4 μm (cf. **Figure 3-31**). Pour le filtre vierge, l'efficacité dans cette zone est comprise entre 10 et 20%. Pour le **G4-T+1**, l'efficacité du filtre colmaté par l'alumine est d'environ 30% pour les particules de 0,4 μm . Le filtre **G4-CF1** ne présente pas une évolution significative de l'efficacité pendant le colmatage avec les particules, probablement dû au fait du colmatage court relativement plus court par rapport à celui de **G4-T+1**. Le fait de colmater avec le riz, provoque un saut de l'efficacité significatif pour toutes les tailles des particules. Cette augmentation brusque de l'efficacité est cohérente avec l'évolution rapide de la ΔP . Ce saut de l'efficacité fractionnelle, entre la fin du colmatage avec l'alumine, et le colmatage avec le riz, peut s'expliquer par les différences de morphologie, charges électriques et nature des deux types de particules.

Pour les filtres F7 en deuxième étage (cf. **Figure 3-32**), la MPPS se trouve également pour les particules inférieures à 0,4 μm . Le fait de colmater le filtre avec le riz micronisé ne génère pas

un saut de l'efficacité comme pour les filtres G4. Ceci s'explique par le faible colmatage des filtres et à la légère évolution de la ΔP . L'efficacité dans cette zone est comprise entre 85 et 90%.

Pour les filtres F7 placés en premier étage (cf. **Figure 3-33**), l'efficacité initiale pour les particules aux alentours de $0,4\ \mu\text{m}$ est comprise entre 80 et 85% pour les filtres **F7-T+2** et **F7-CF2** respectivement. Cette efficacité est élevée par rapport à celle donnée par le fabricant pour les filtres vierges qui est de 64%, vis-à-vis des particules de DEHS à $0,4\ \mu\text{m}$. Cette différence s'explique certainement par l'utilisation de filtres prototypes et par le fait qu'il ne s'agit pas du même type d'aérosol. La MPPS pour les filtres F7, est inférieure à $0,3\ \mu\text{m}$. Ces filtres présentent une augmentation considérable de l'efficacité vis-à-vis des particules d'alumine, par rapport aux filtres G4, notamment pour les particules submicroniques. Au début de la génération du riz, l'efficacité fractionnelle ne présente pas une augmentation significative par rapport à celle observée en fin de colmatage avec l'alumine. A la fin du colmatage avec le riz micronisé, pour F7-CF2, le filtre atteint une efficacité supérieure à 95% pour toutes les tailles de particules.

L'efficacité fractionnelle des filtres F9 n'est pas présentée en raison d'une concentration totale des particules et par classe très faible avec des incertitudes trop importantes.

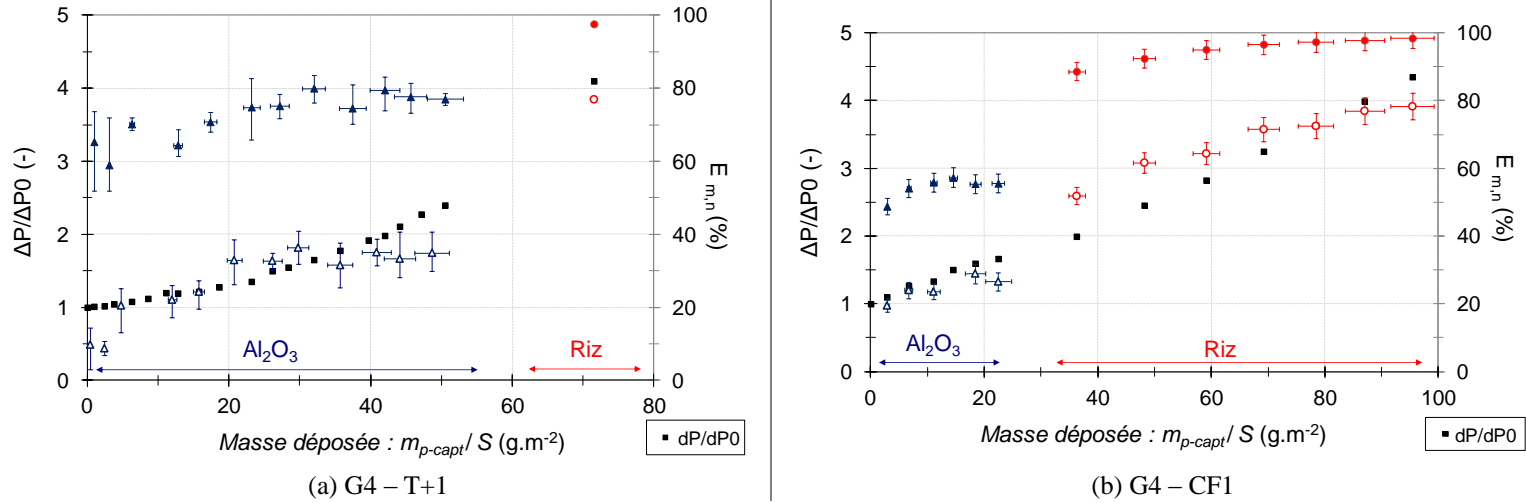


Figure 3-28. Evolution de la perte de charge (■), efficacités en nombre (Δ , \circ) et en masse (\blacktriangle , \bullet) des filtres G4 (en premier étage) pour les essais T+1 et CF1.

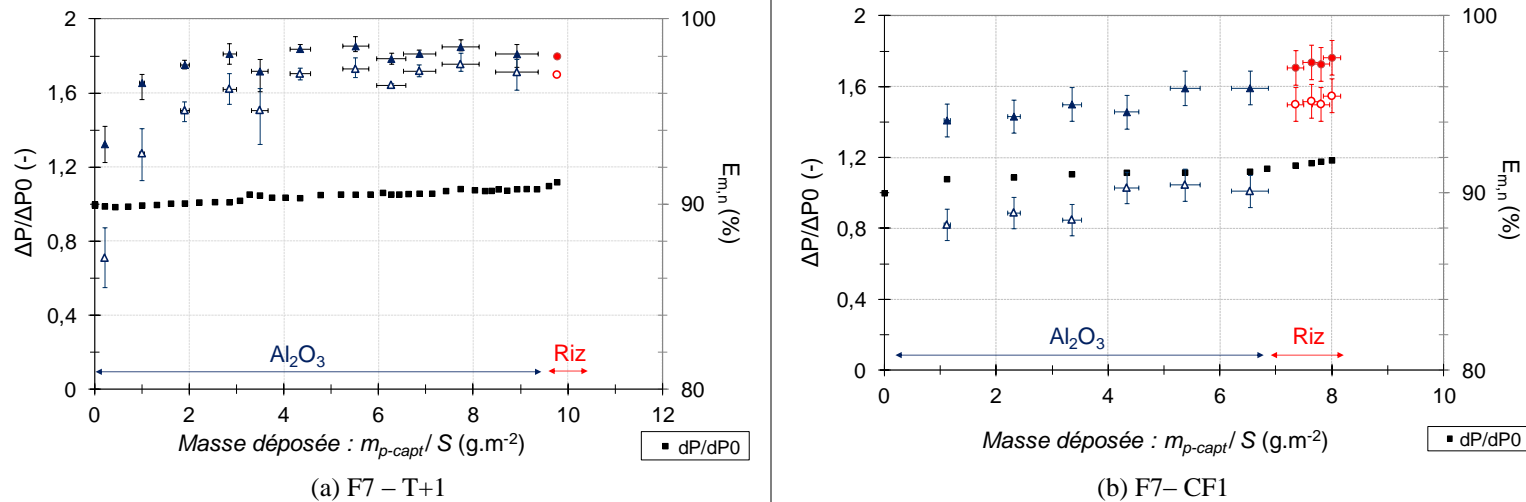


Figure 3-29. Evolution de la perte de charge (■), efficacités en nombre (Δ , \circ) et en masse (\blacktriangle , \bullet) des filtres F7 (en deuxième étage) pour les essais T+1 et CF1.

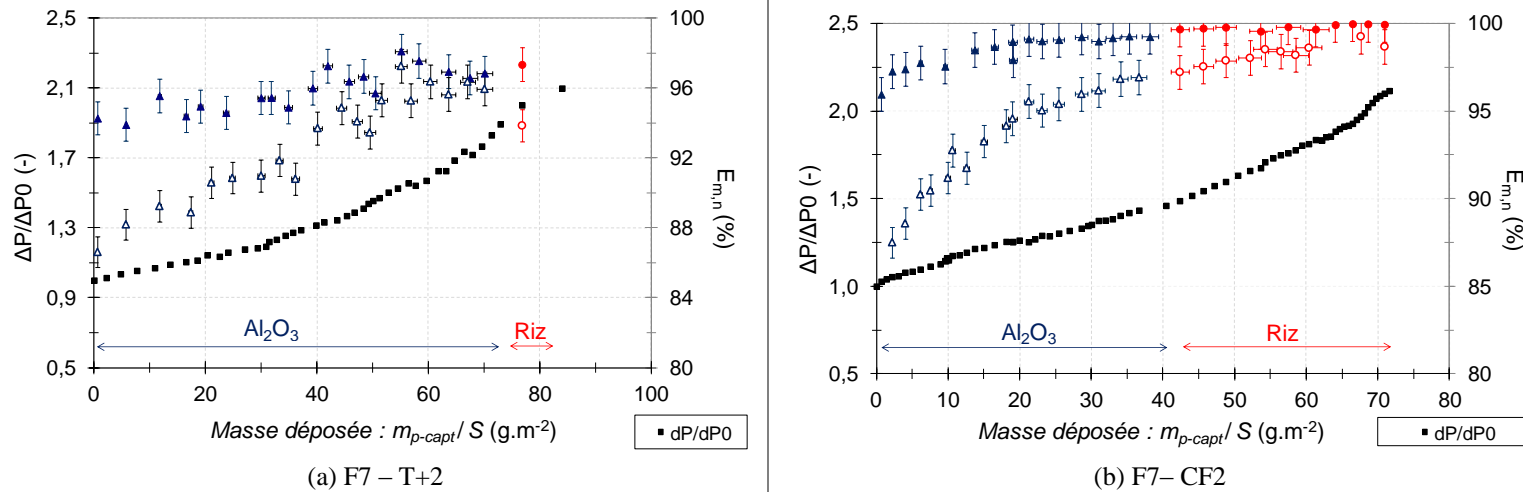


Figure 3-30. Evolution de la perte de charge (■), efficacités en nombre (Δ , \circ) et en masse (\blacktriangle , \bullet) des filtres F7 (en premier étage) pour les essais T+2 et CF2.

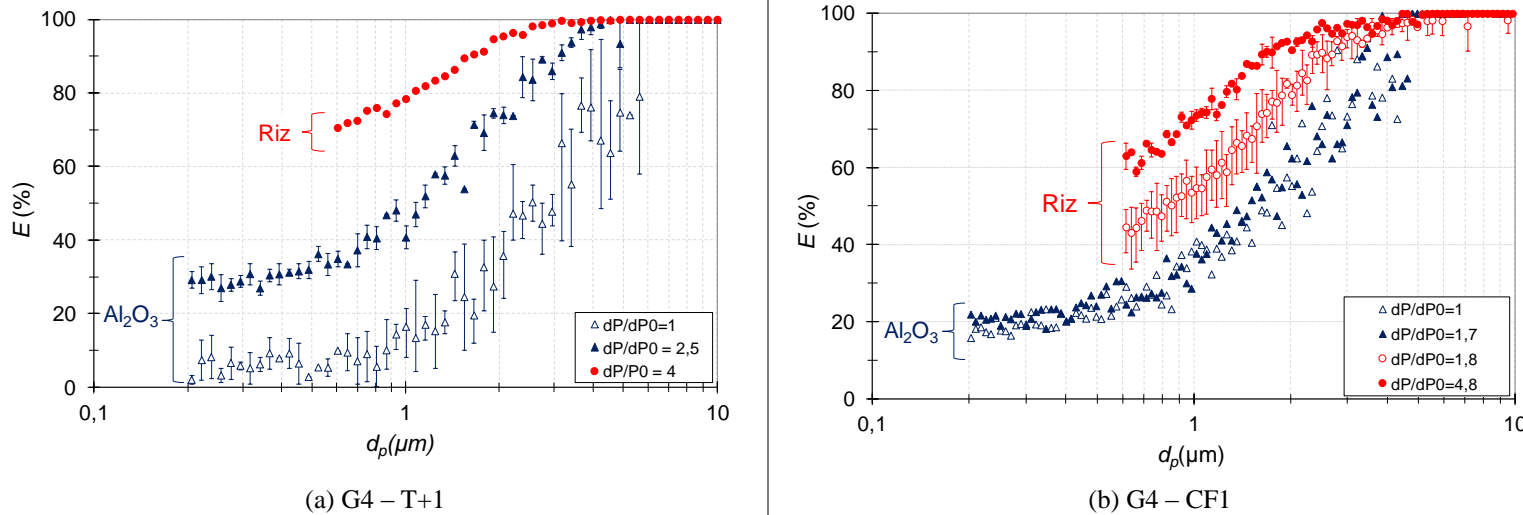


Figure 3-31. Efficacités fractionnelles des filtres G4 (en premier étage) pour les essais T+1 et CF1 à différents degrés de colmatage.

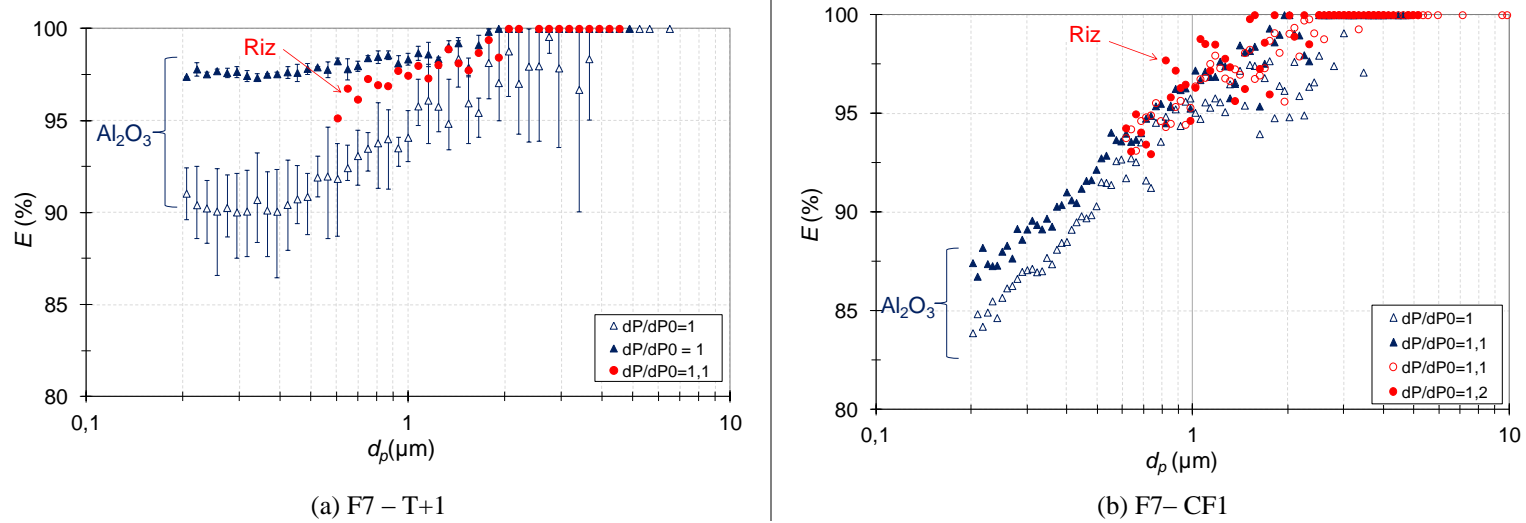


Figure 3-32. Efficacités fractionnelles des filtres F7 (en deuxième étape) pour les essais T+1 et CF1 à différents degrés de colmatage.

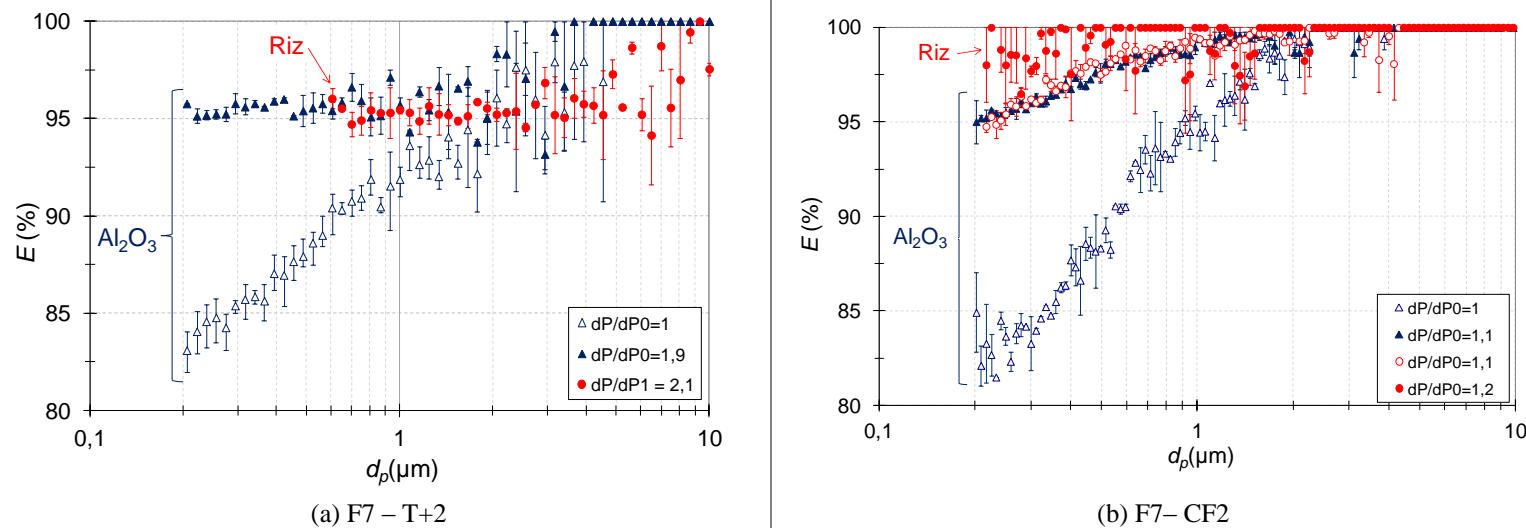


Figure 3-33. Efficacités fractionnelles des filtres F7 (en premier étage) pour les essais T+2 et CF2 à différents degrés de colmatage.

IV.5. Efficacités des filtres vis-à-vis des aérosols microbiens (comptage UFC)

Sur les **Figure 3-34** et **3-35**, les concentrations des microorganismes en amont (P1), au milieu (P2) et en aval (P3) des filtres sont présentées. La concentration correspondant au consortium est une estimation théorique de la concentration générée, en tenant compte du débit de génération, du temps de génération et du débit d'air dans la mini CTA. Les valeurs de n représentent le nombre d'échantillons sous la forme axb , où a est le nombre de prélèvements et b est le nombre de série de dilution ayant été analysés sur boîtes de Petri suivi du comptage des colonies (UFC). Pour rappel, cette technique de comptage UFC, ne tient compte que des microorganismes viables et cultivables.

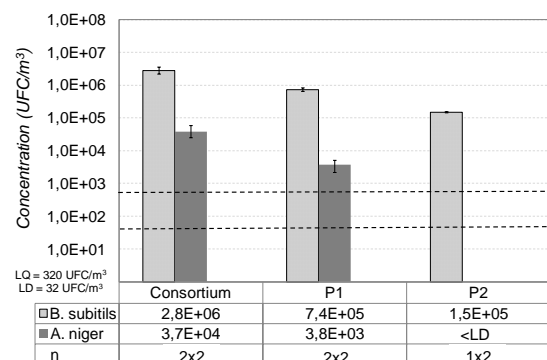
Les concentrations microbiennes en amont et en aval de chaque filtre, pour la configuration 1 sont présentées sur la **Figure 3-34**. Les filtres G4 présentent une efficacité UFC vis-à-vis des spores de *B. subtilis*, d'environ 77 ± 5 %. Cette valeur est comparable avec les efficacités observées sur la **Figure 3-31**, à la fin du colmatage avec le riz micronisé, pour les particules d'1 μm (taille estimée de la bactérie dans la littérature). Les filtres F7 placés en deuxième étage présentent une efficacité de 95 ± 4 %, vis-à-vis des spores de *B. subtilis*. Ces valeurs sont elles aussi comparables à l'efficacité des filtres colmatés vis-à-vis des particules. *A. niger* n'est pas détecté en P2 ni P3. Il semble qu'il est arrêté dès le premier étage du fait de l'efficacité élevée du filtre colmaté et de la taille des spores plus importante (pour rappel, entre 3 et 5 μm). Néanmoins, il est détecté sur le filtre F7 placé en aval (**Figure 3-36b** et **c**), ce qui indique que la limite de détection ne permet pas de le quantifier et que l'efficacité de filtre G4 n'est pas de 100% vis-à-vis les spores d'*A. niger*.

Les concentrations microbiennes en amont et en aval de chaque filtre, pour la configuration 2 sont présentées sur la **Figure 3-35**. Le filtre **F7-T+2** placé en premier étage, présentent une efficacité vis-à-vis des spores de *B. subtilis* de $96 \pm 1\%$, ce qui est comparable avec l'efficacité fractionnelle à 1 μm du filtre colmaté **F7-T+2** (cf. **Figure 3-33a**). Pour l'essai **CF2**, *B. subtilis* n'a pas été détecté en aval du F7 en premier étage. Ceci peut s'expliquer par l'efficacité du filtre colmaté **F7-CF2** qui est proche de 100% d'après la **Figure 3-33b**, ce qui suggère que les spores bactériennes sont retenues notamment sur le premier étage. De plus, la concentration

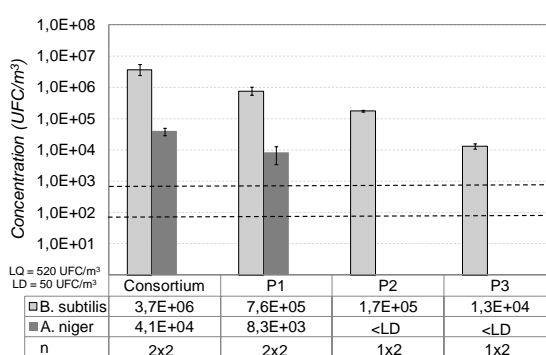
était plus faible dans le consortium initial, et en conséquence en amont des filtres, de l'ordre de 10^3 UFC/m³, ce qui est très proche de la limite de détection.

Les spores de *B. subtilis* ont été détectées en aval du filtre F9, pour les essais **T+2** et **T+2 bis**.

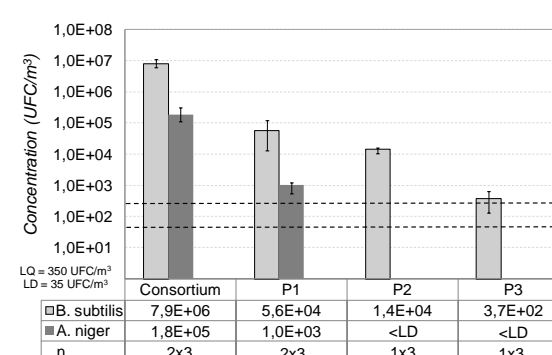
A. niger n'a pas été détecté en aval des filtres, pour cette configuration, ce qui suggère que les spores fongiques ont été retenues par le premier étage de filtration.



(a) Essai T+1

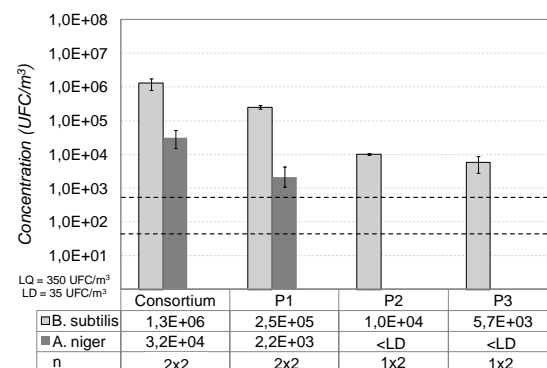


(b) Essai T+1bis

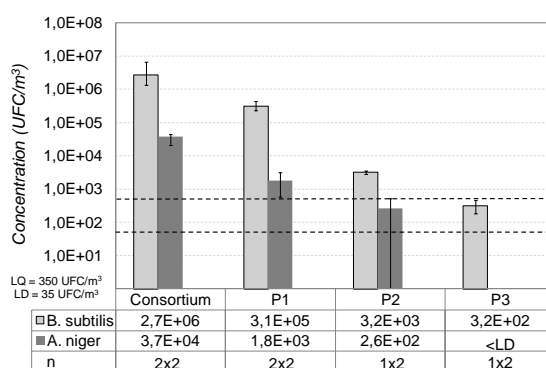


(c) Essai CF1

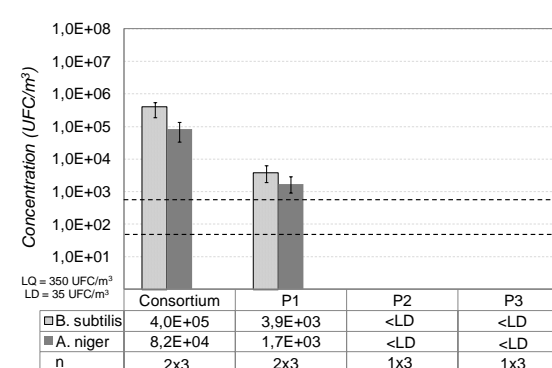
Figure 3-34. Concentrations des aérosols microbiens en amont et en aval de chaque filtre – Configuration 1



(a) Essai T+2

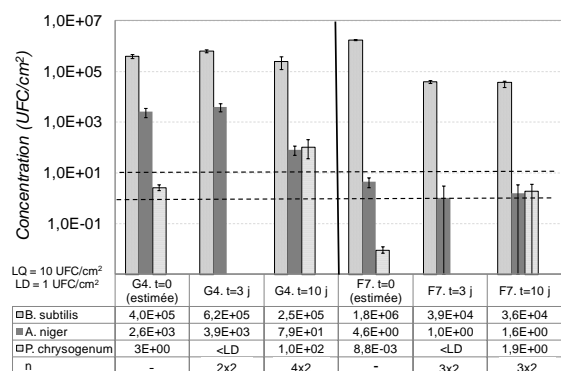


(b) Essai T+2bis

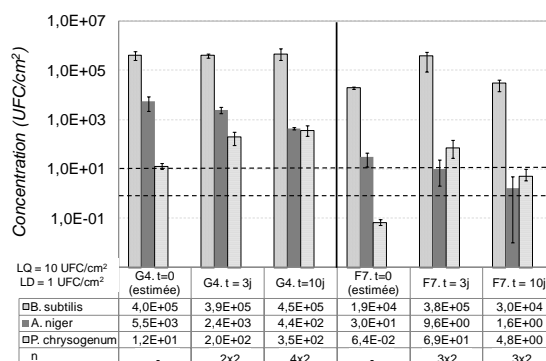


(c) Essai CF2

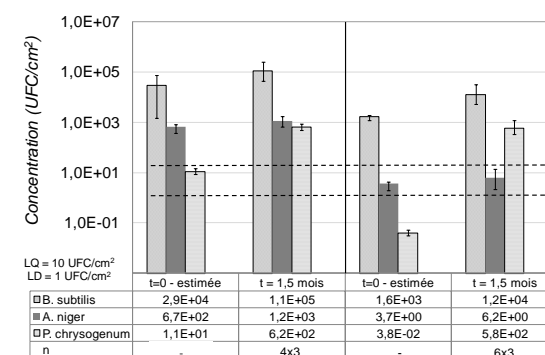
Figure 3-35. Concentrations des aérosols microbiens en amont et en aval de chaque filtre – Configuration 2



(a) Essai T+1

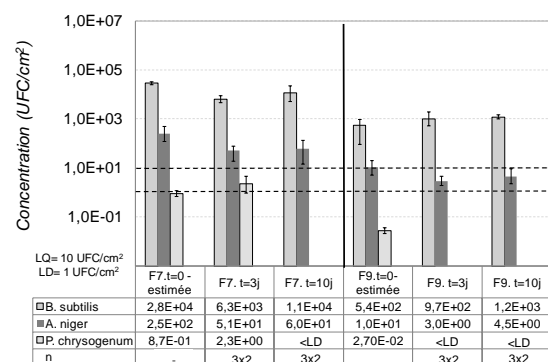


(b) Essai T+1bis

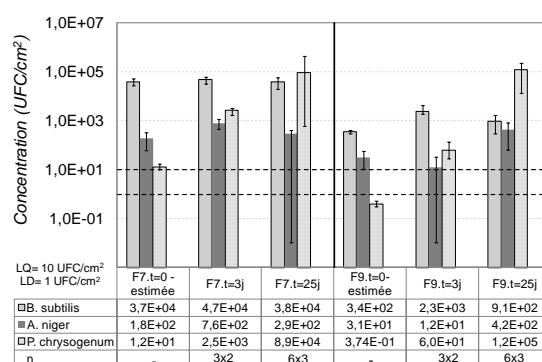


(c) Essai CF1

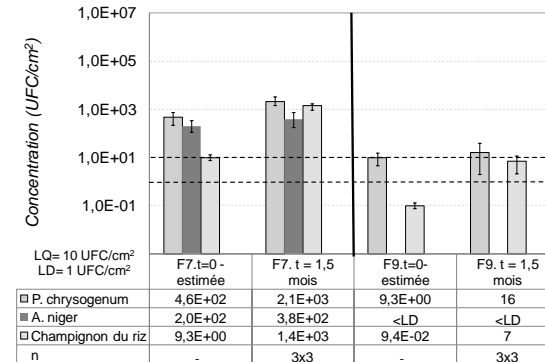
Figure 3-36. Concentrations des microorganismes sur les filtres – Configuration 1



(a) Essai T+2



(b) Essai T+2bis



(c) Essai CF2

Figure 3-37. Concentrations des microorganismes sur les filtres – Configuration 2

IV.6. Concentration des microorganismes sur les filtres

Les concentrations des microorganismes sur les filtres sont présentées sur les **Figure 3-36 et 3-38**, pour la configuration 1 et 2 respectivement. Les concentrations sont normalisées par la surface de filtration, en UFC/cm² de filtre. A t=0, les concentrations de *B. subtilis* et *A. niger* présentées sur les figures, sont des estimations théoriques. Ce calcul est réalisé à partir des concentrations mesurées dans l'air par Biosampler en amont et en aval des filtres, reportées à la surface de filtration. Les barres d'incertitude correspondent aux valeurs maximales et minimales estimées.

La concentration de *P. chrysogenum*, à t=0 est aussi estimée théoriquement, en tenant compte de la masse générée de riz micronisé, et du ratio de microorganisme par masse de riz (en UFC/g riz, comme décrit dans le Chapitre 2), reportée également à la surface de filtration. Sur ces figures, les valeurs de *n* représentent le nombre d'échantillons sous la forme *axb*, où *a* est le nombre d'échantillons du filtre et *b* est le nombre de séries de dilution pour analyses sur boîtes de Petri suivi du comptage des colonies (UFC).

Concernant la configuration 1, la concentration surfacique de *B. subtilis* reste stable sur la durée d'observation. Que ce soit 10 jours d'arrêt dans la boîte hermétique ou 6 semaines (test CF1) dans la mini CTA en subissant des cycles d'arrêt et de redémarrage. La survie est donc assurée par le mécanisme de sporulation avec formation d'endospores propre à cette bactérie. *A. niger* décroît au fur et à mesure du temps. Ce déclin de viabilité peu être dû au fait que dans ces conditions, certaines spores d'*A. niger* débute le processus de germination mais que ce dernier n'abouti pas à la formation de nouvelles spores. *P. chrysogenum*, se développe sur les filtres G4 et F7, notamment pour les essais **T+1 bis** et **CF1**, où il y avait une quantité plus importante de riz. Cette différence de comportement peut s'expliquer par le fait que la décroissance d'*A. niger* peut être inhibée par un effet de compétition entre les souches pour les nutriments disponibles. *B. subtilis* semble moins concernée par cette compétition probablement parce que la concentration déposée sur les filtres est bien supérieure que celle des champignons.

Pour la configuration 2, les tendances se poursuivent. Une croissance importante de *P. chrysogenum*, a été observée sur le filtre F9 de l'essai **T+2 bis**. Ce filtre, étant dans la boîte hermétique pendant 25 jours à 90%, a fourni les conditions les plus favorables pour la

croissance de ce microorganisme. L'effet combiné donc, présence de nutriments, temps et humidité relative, est facteur clé pour le développement microbien.

Pour l'essai CF2, *A. niger* n'est pas détecté sur le filtre F9 en deuxième étage. Ceci s'explique par l'efficacité élevée du filtre F7 de cette configuration, qui a certainement empêché l'arrivée d'*A. niger* sur le filtre F9.

Les arrêts de ventilation et les reprises, ne semblent pas avoir une influence sur la survie des microorganismes.

Il est important de souligner qu'il a été observé une contamination homogène sur la surface des filtres, que ce soit sur le filtre G4 ou sur les filtres à poches.

Les limites de détection sont fixées par rapport au comptage UFC. La limite de détection (**LD**) a été fixée à l'observation d'1 colonie sur une boîte de Petri, c'est-à-dire 1 UFC par volume étalé sur la boîte. La limite de quantification (**LQ**) a été fixée à 10 UFC par volume étalé sur la boîte de Petri, du fait que s'il y a une dilution 1 :10, il serait probable d'observer 1 colonie sur la boîte de Petri, correspondant au volume dilué 10 fois.

IV.7. Perméabilité des filtres colmatés

Le coefficient de perméabilité (**B0**) sur les filtres vierges et colmatés est présenté sur la **Figure 3-38**. Il est possible d'observer que pour le filtre G4, les filtres qui contiennent une quantité de riz plus importante (essais **T+1 bis** et **CF1**) présentent un coefficient de perméabilité plus faible par rapport au filtre vierge. Ceci est cohérent par rapport au niveau de colmatage du filtre préalablement analysé.

Les filtres F7 colmatés, placés en premier étage, présentent également des coefficients de perméabilité plus faibles par rapport au filtre vierge. La perméabilité des filtres colmatés F9 reste quasiment invariable par rapport au filtre vierge. Ceci est cohérent aussi, du fait du faible niveau de colmatage de ces filtres placés en deuxième étage.

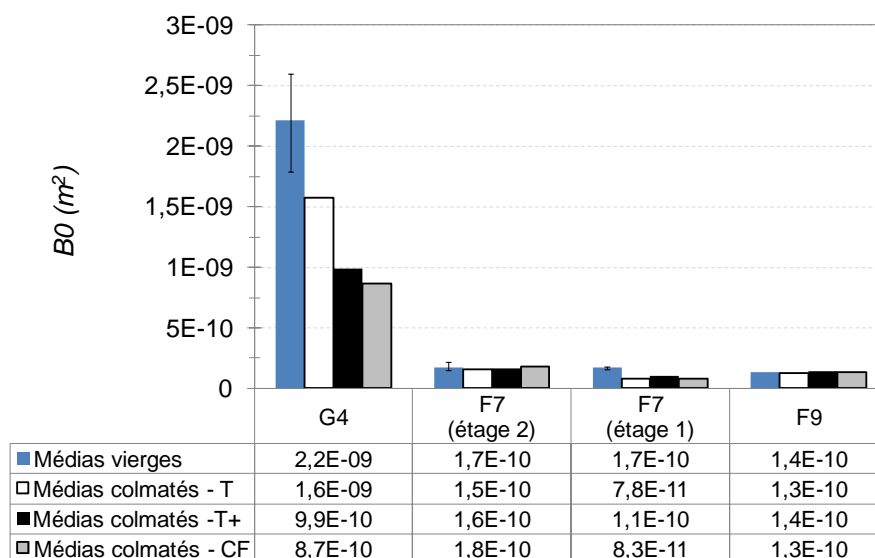


Figure 3-38. Coefficient de perméabilité des filtres colmatés par rapport aux filtres vierges.

IV.8. Relargage des particules

Concernant l'essai CF1, lors des reprises de la ventilation, un relargage de particules a été observé en aval du filtre F7 notamment pendant la première minute du démarrage. La granulométrie des particules relarguées est présentée dans la **Figure 3-39**, où il est possible d'observer que la fraction relarguée est nettement submicronique, notamment des particules de tailles comprises entre 0,2 et 0,6 μm (MPPS). A noter que lors 2^{ème} démarrage, la concentration en particules en aval des filtres n'était pas suffisamment importante pour permettre l'établissement d'une distribution granulométrique. Les concentrations mesurées varient entre 35 et 450 part/cm^3 en aval du filtre F7. Le premier démarrage présente une concentration élevée car la consigne du ventilateur a été dépassée de manière non intentionnelle jusqu'à un débit de 200 m^3/h . En revanche, il n'a pas été observé de relargage de microorganismes pour la fraction échantillonnée. La concentration en microorganismes était donc inférieure à la limite de détection de 110 UFC/m^3 , en aval du filtre G4 comme en aval du filtre F7.

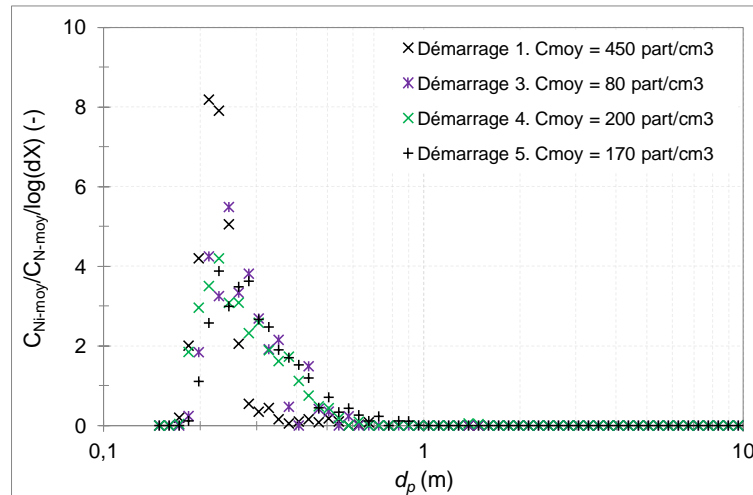


Figure 3-39. Distribution granulométrique des particules relarguées en aval du filtre F7 – Essai CF2

V. Conclusion du chapitre

Les conclusions de ce chapitre, sur l'étude du développement de microorganismes sur les filtres en conditions de laboratoire sont :

- Une mini CTA a été développée pour l'étude des aérosols microbiens en filtration. Cette mini CTA contient deux étages de filtration, permet l'étude de filtres prototypes de différentes géométries industrielles, à des vitesses de filtration caractéristiques des CTA réelles.
- Elle a été validée en termes de comportement aéraulique et de régulation des conditions climatiques.
- Deux configurations de filtres ont été étudiées. La première correspond à un filtre G4 plan plissé en premier étage, et un filtre F7 à poches en deuxième étage. La deuxième configuration comprend deux filtres à poches, un F7 en premier étage et un F9 en deuxième étage. Ces filtres ont été colmatés avec des particules d'alumine, suivi par un colmatage avec des particules de riz micronisé. Enfin, les filtres pré colmatés sont contaminés par un consortium microbien composé de spores de *B. subtilis* et d'*A. niger*. Le riz quant à lui apporte le champignon *P. chrysogenum*.
- Les courbes de performances des filtres suggèrent que l'évolution de la ΔP est plus importante pour les filtres G4 que pour les filtres F7, quand ils sont en premier étage

de filtration. Ceci, probablement dû au fait que la nature des deux médias est différente.

- Pour les filtres placés en deuxième étage, l'évolution de la ΔP est nettement plus faible du fait qu'ils sont peu colmatés.
- Lors de la génération du riz micronisé sur un filtre pré colmaté, la ΔP augmente rapidement, notamment pour les filtres G4.
- Les résultats microbiologiques suggèrent que les spores de *B. subtilis* survivent sur les filtres pré colmatés avec des particules d'alumine et de riz micronisé sur de longues durées (1,5 mois). Ceci a été observé sur les filtres G4, F7 et F9, pour les deux types de tests : les témoins positifs et les cycles de fonctionnement. Cette survie de *B. subtilis* semble indépendante de l'humidité relative (60 ou 90%) dans la mini CTA et du ratio généré Al_2O_3/Riz . Il est néanmoins important de remarquer que la concentration en microorganismes générée était élevée, ce qui augmente les possibilités de survie sur les filtres. Le champignon *P. chrysogenum* semble se développer sur les filtres G4, F7 et F9 à condition qu'une quantité minimale de riz soit déposée sur le filtre. Ceci explique pourquoi, sur les premiers témoins, ce champignon n'a pas été détecté sur les filtres après 3 jours de fonctionnement, ni après 10 jours d'incubation dans la boîte hermétique. *A. niger* ne se développe pas sur les filtres, probablement dû à un phénomène de compétition entre les souches. Les arrêts de ventilation ne semblent pas avoir d'influence sur la survie des microorganismes.
- Pendant les épisodes de démarrage, aucun relargage de microorganismes n'a été détecté avec les conditions de mesures exposées. Néanmoins, un relargage de particules a été observé.
- Ces observations laissent à penser que sur un filtre en conditions réelles, où il y a plusieurs souches de bactéries et de champignons, certaines familles ou genres de microorganismes, auront la capacité à survivre, se développer ou à décroître sur les filtres. Probablement, des phénomènes de compétition pour l'accès aux nutriments ont lieu sur les filtres qui sont colmatés en continu avec différents types de particules et de microorganismes.

Chapitre 4. Etude de l'influence des
paramètres de gestion des CTA sur le
développement d'aérosols microbiens – Suivi
des performances de deux CTA à pleine
échelle

I. Introduction

En parallèle de l'échelle laboratoire, deux CTA sur site réel ont été étudiées en termes de suivi de la perte de charge (ΔP) des filtres, de l'humidité relative (HR) et de la température dans les gaines de ventilation, ainsi que de la concentration de particules et de microorganismes en amont et en aval de chaque filtre. Une méthodologie de suivi de la concentration des microorganismes sur les filtres a été également développée afin d'étudier le comportement microbien dans des conditions réelles de filtration, ce qui présente une nouveauté dans ce type d'études. Les objectifs de ce suivi sont :

- Réaliser un suivi du colmatage des filtres (perte de charge et efficacité), afin d'étudier leurs performances vis-à-vis d'un aérosol urbain.
- Analyser les filtres d'un point de vue microbiologique afin de savoir s'ils agissent éventuellement comme niches pour le développement ou la survie de microorganismes.
- Mesurer la concentration de microorganismes en aval des filtres lors des reprises de la ventilation après un week-end d'arrêt afin de quantifier l'éventuel relargage de microorganismes. Enfin, proposer des préconisations pour la gestion d'une CTA réelle et pour la maintenance sur site.

Dans ce chapitre, dans un premier temps, la description des CTA suivies et la démarche expérimentale sont exposées. Ensuite, une analyse des performances des filtres vis-à-vis d'un aérosol urbain est présentée ainsi que les résultats en termes de microbiologie sur les filtres.

II. Description du site

Deux CTA à pleine échelle ont été étudiées dans le cadre de ces travaux. Ces CTA font partie d'un réseau de plusieurs CTA qui assurent le traitement de l'air d'un immeuble de bureaux en région Nantaise, qui présente notamment un centre de reprographie. Ce bâtiment se situe dans une zone périurbaine, à moins d'1 km d'une route périphérique et à moins de 2 km d'un parc public et d'une rivière.

Les deux CTA étudiées se situent au niveau du sous-sol du bâtiment et la prise d'air extérieur se trouve au niveau du sol. Une CTA, identifiée dans ces travaux comme **CTA9**, traite l'air extérieur et le souffle vers les locaux. L'autre, nommée **CEX9**, extrait l'air des locaux et le filtre avant rejet vers l'extérieur. Ces appellations obéissent à leur identification dans le réseau des CTA du bâtiment.

La **CTA9** dessert le centre de reprographie. Il s'agit d'une CTA tout air neuf, de section carrée (80 cm x 80 cm) composée de deux étages de filtration, soit un filtre par étage. En premier étage, un filtre d'efficacité G4 plan plissé assure la pré-filtration des particules provenant de l'extérieur. En deuxième étage, un filtre à poches d'efficacité F7 assure la filtration de l'air qui est ensuite soufflé vers les locaux. Entre les deux étages, il y a des batteries froides et chaudes qui régulent la température de l'air soufflé. La régulation de l'humidité relative se réalise en aval des filtres. Le débit d'admission est de 4300 m³/h. Il s'agit du débit théorique au moment de la conception de la CTA. Un schéma de cette CTA est présenté sur la **Figure 4-1a**.

La **CEX9** est composée d'un seul étage de filtration (**Figure 4-1b**). Cette CTA traite l'air extrait des locaux par filtration en un seul étage, via un filtre G4 plan plissé, puis elle le rejette vers l'extérieur. Cette CTA traite une partie seulement de l'air extrait des locaux desservis par la CTA9. Il n'y a pas de recirculation de l'air extrait. Les gaines sont de section carrée (80 cm x 80 cm) et le débit d'extraction théorique au moment de la conception de la CTA est de 3500 m³/h.

Ces CTA fonctionnent de lundi au vendredi, 13 h par jour. Elles sont arrêtées les nuits, les week-ends et les jours fériés.

III. Démarche expérimentale

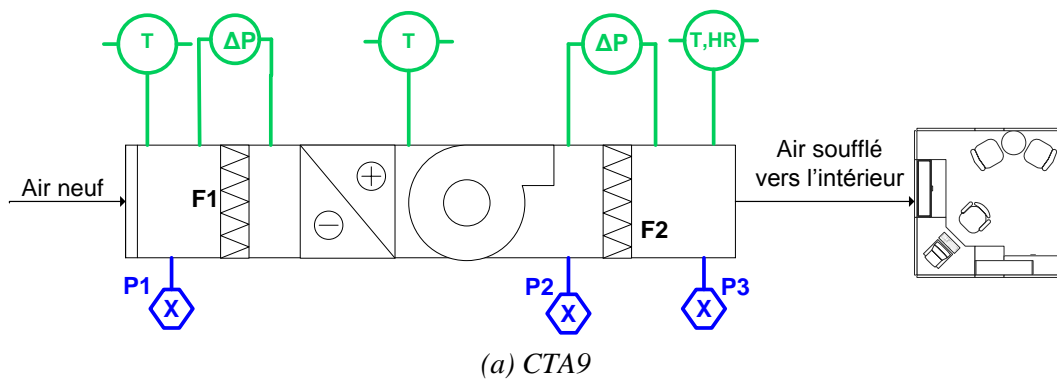
III.1. Suivi des paramètres et campagnes d'essais

Les deux CTA ont été suivies pendant 6 mois d'avril à septembre 2013. Trois paramètres ont été mesurés en continu dans les caissons de filtration : la perte de charge de chaque filtre (**ΔP**), la température (**T**) en amont et en aval de chaque filtre et l'humidité relative (**HR**) en

aval des filtres. Trois points de mesure de particules et d'aérosols microbiens ont été définis sur la **CTA9** : en amont du filtre G4 (**P1**), entre les deux filtres (**P2**) et en aval du filtre F7 (**P3**). Deux points de suivi ont été définis sur la **CEX9** : en amont du filtre G4 (**P1-Ext**) et en aval du filtre (**P2-Ext**). Les points de mesure sont présentés sur le schéma de la **Figure 4-1** pour les deux CTA.

Des prélèvements par Biosampler et des comptages des particules en amont et en aval de chaque filtre ont été réalisés, à raison d'une fois par mois, pendant 2 h en chaque point de mesure. Le liquide collecteur était une solution physiologique de NaCl avec une concentration de 4,5 g/L. Il a été décidé de diminuer la concentration en sels du liquide collecteur par rapport aux essais sur la mini CTA (9 g/L) du fait d'une évaporation plus importante, conséquence d'un temps de prélèvement plus long. Le temps de prélèvement a été augmenté (45 min de prélèvement pour la mini CTA), afin de cumuler une quantité de microorganismes plus importante et ainsi d'avoir un meilleur niveau de détection. Les prélèvements en **P1**, **P2** et **P3** ont été réalisés en simultané et souvent vers midi (12h-14h). De même, les points **P1-Ext** et **P2-Ext** ont été prélevés en simultané souvent le matin entre 9h et 11h.

Le dénombrement des particules a été réalisé à l'aide de deux compteurs de particules Grimm 1.108. Comme présenté dans le **Chapitre 1**, cet appareil est un photomètre qui contient un système optique à faisceau laser permettant la mesure instantanée et en continu de la concentration des particules ainsi que leur distribution granulométrique. Pour évaluer l'efficacité d'un filtre, les mesures ont été réalisées en amont et en aval dudit filtre en simultané pendant au moins 30 min. Ces prélèvements ont été réalisés dans les gaines de ventilation.



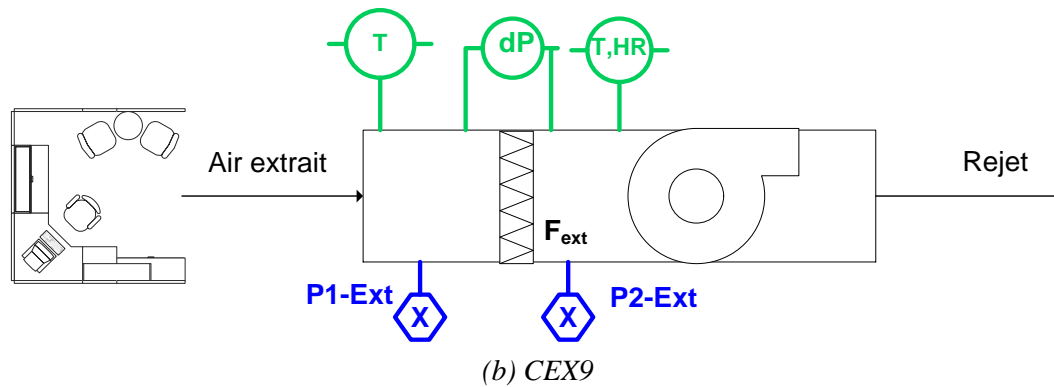


Figure 4-1. Schéma des 2 CTA (CTA9 et CEX9), des paramètres suivis et des points de prélèvement.

III.2. Suivi de la concentration de microorganismes sur les filtres – Méthodologie d'échantillonnage

Un suivi de la concentration de microorganismes collectés sur les filtres de la **CTA9** a été également réalisé, 1 fois par mois. Pour ce faire, un filtre G4 et un filtre F7 préparés au laboratoire, ont été installés dans la **CTA9** au début de la campagne de mesures. Sur la surface de chaque filtre, 20 coupons du même média filtrant ont été fixés à l'aide de cordes de guitare de 0,43 mm de diamètre et, pour le filtre F7 uniquement, de scotch aluminium. Tous les coupons, ayant chacun une surface de 25 cm² (5 cm x 5 cm) ont été disposés sur le filtre sur sa partie centrale, comme présenté sur la **Figure 4-2** et la **Figure 4-3**, pour le filtre G4 et F7 respectivement. Pour le filtre F7 les coupons sont tous situés en entrée de poche (**Figure 4-3**). Trois coupons ont été prélevés chaque mois pour des analyses microbiologiques. Les filtres ont été récupérés à l'aide d'une pince préalablement désinfectée, et transportés au laboratoire dans des boîtes de Petri neuves le jour du prélèvement. Le lendemain, ces coupons ont subi le protocole d'extraction décrit dans le chapitre 2.

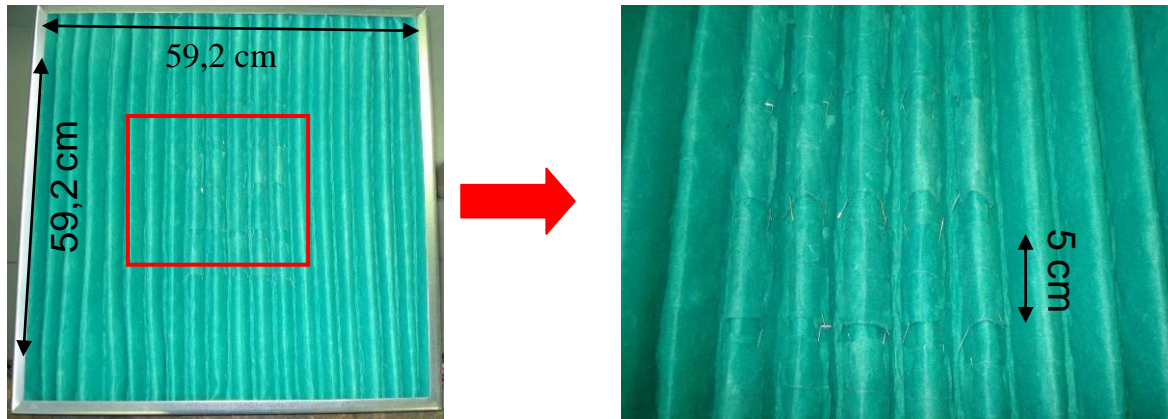


Figure 4-2. Filtre G4 préparé au laboratoire, contenant 20 coupons de média sur sa surface.

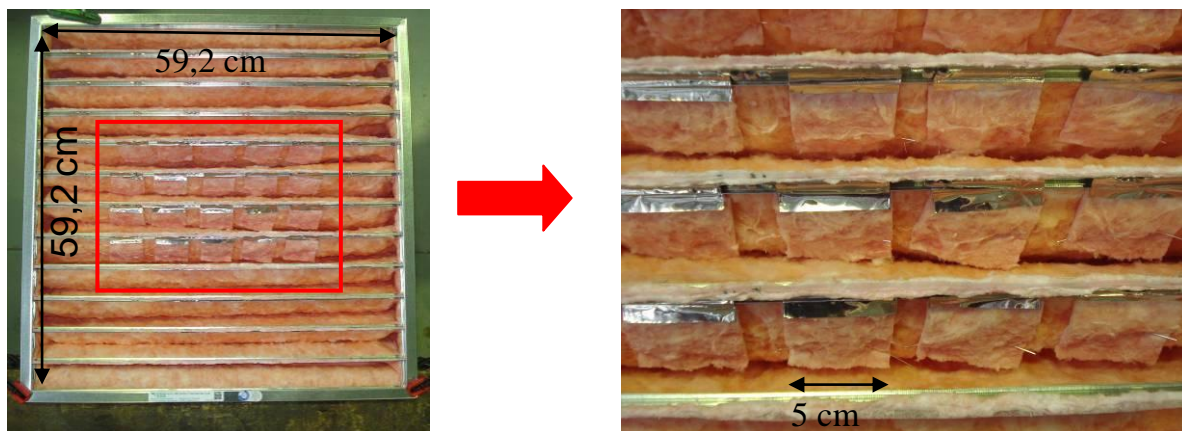


Figure 4-3. Filtre F7 préparé au laboratoire, contenant 20 coupons de média sur sa surface.

L'influence de la présence des cordes de guitare sur l'intégrité du média filtrant, en termes de ΔP et d'efficacité, a été étudiée au laboratoire. Il a été décidé de vérifier l'effet des trous sur un filtre F7 en raison de son efficacité plus importante vis-à-vis des particules fines que le filtre G4 et de sa compacité interne plus importante. Pour ceci, un filtre plan d'efficacité F7 ayant une surface de filtration de 92 cm^2 a été percé et colmaté avec de particules d'alumine dans un banc de filtration conçu pour le test de filtres plans. La ΔP et l'efficacité en nombre du filtre ont été suivies pendant le colmatage. Le filtre a été percé avec une corde de guitare de 0,43 mm de diamètre. Environ 40 trous ont été faits, totalisant environ 6 mm^2 de surface (moins de 0,1% de la surface du filtre affectée par les trous). L'évolution de la ΔP et de l'efficacité en fonction de la masse des particules déposée a été comparée avec les valeurs moyennes d'évolution de 3 filtres plans F7 non percés et colmatés dans les mêmes conditions (**Figure 4-4**). Les barres d'incertitude verticales correspondent aux valeurs maximales et minimales de ΔP et d'efficacité sur les 3 essais réalisés.

L'évolution de la ΔP et de l'efficacité du filtre F7 percé ne présentent pas de différences significatives par rapport à celle d'autres filtres F7 non percés, pour le cas des filtres plans. Considérant que sur un filtre F7 à poches de taille industrielle, la surface développée est beaucoup plus importante ($5,4 \text{ m}^2$ d'après les données constructeur), l'effet des trous ne devrait pas modifier la performance du filtre.

De plus, il a été observé que pendant l'introduction des cordes de guitare sur les filtres, les couches qui constituent le média revenaient à leur position initiale et les trous étaient peu visibles à l'œil nu.

Ces résultats obtenus au laboratoire ont permis de valider la démarche employée pour la préparation des filtres et leur suivi en microbiologie.

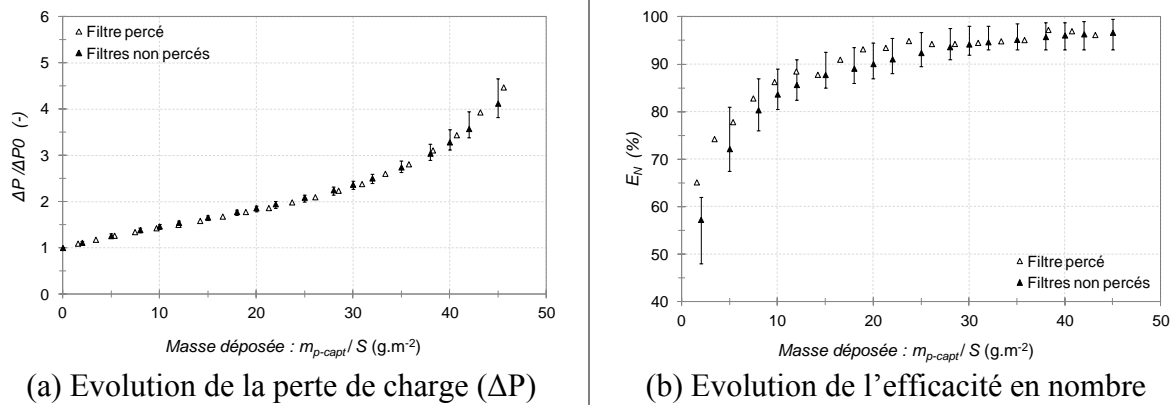


Figure 4-4. Evolution de la perte de charge (ΔP) et de l'efficacité en nombre (E_N) d'un filtre plan F7 percé avec des cordes de guitare en comparaison avec d'autres filtres F7 non percés.

Enfin, deux campagnes de comptage de particules et de prélèvements par Biosampler, en aval de chaque filtre, ont été réalisées lors du redémarrage de la **CTA9** après un weekend d'arrêt. Le comptage de particules a démarré 10 min avant la reprise de la ventilation, et il s'est prolongé jusqu'à 20 min après celle-ci afin de mesurer les particules éventuellement relarguées. Le prélèvement d'air par Biosampler a démarré 5 min avant la reprise de la ventilation et il a été réalisé pendant 15 min afin de mesurer les microorganismes éventuellement relargués. Après échantillonnage, les Biosamplers ont été transportés au laboratoire pour les analyses microbiologiques.

III.3. Estimation du débit dans la gaine de la CTA9

Le débit dans la gaine de la CTA9 a été calculé à partir de deux méthodes. Premièrement, par mesure expérimentale de la vitesse dans la canalisation à l'aide d'un anémomètre à fil chaud. Deuxièmement, par comparaison de la ΔP initiale des filtres installés par rapport aux courbes de perméamétrie fournies par le fabricant des filtres.

La mesure expérimentale de la vitesse a été réalisée juste après avoir installé les filtres, à $t = 0$ et après 4 mois de fonctionnement. Trois mesures ont été réalisées en 3 points différents sur un axe horizontal dans une section carrée située en amont des filtres et dans une section circulaire située en aval des filtres, comme présenté sur la **Figure 4-5**. En amont des filtres, la vitesse moyenne est d'environ 5,4 m/s, ce qui équivaut à un débit volumique d'environ $7000 \pm 250 \text{ m}^3/\text{h}$. Après 4 mois de fonctionnement, la vitesse dans la gaine a été vérifiée. La vitesse moyenne mesurée est de 5,2 m/s ce qui équivaut à un débit volumique de $6740 \pm 500 \text{ m}^3/\text{h}$.

En aval des filtres, à $t = 0$, la vitesse mesurée fluctue entre 7,7 et 8,9 m/s. Le débit volumique calculé est d'environ $5650 \text{ m}^3/\text{h} \pm 600 \text{ m}^3/\text{h}$. Ce débit est comparable avec le débit issu de la courbe de perméamétrie du filtre F7 donnée par le fabricant qui indique que pour une ΔP d'environ 170 Pa (ΔP_0 du filtre F7), le débit correspondant est de $5000 - 5500 \text{ m}^3/\text{h}$. Après 4 mois de fonctionnement, la vitesse a été mesurée comme étant comprise entre 8,4 et 9,3 m/s, ce qui équivaut à un débit de $6200 \pm 300 \text{ m}^3/\text{h}$. Dans tous les cas, le débit en amont des filtres est supérieur au débit en aval des filtres, ce qui suggère la présence d'une fuite entre les deux points de mesure. La différence des débits amont/aval est plus importante à $t=0$ qu'à $t=4$ mois. Ces mesures ne sont données qu'à titre indicatif, puisqu'il y a des changements de section dans la gaine au niveau des points de mesure, ce qui peut conduire à une perturbation de l'écoulement. L'aérodynamique dans la gaine est donc mal connue.

Il est important de remarquer que le débit mesuré est bien plus élevé que le débit théorique de la CTA au moment de la conception ($4300 \text{ m}^3/\text{h}$).

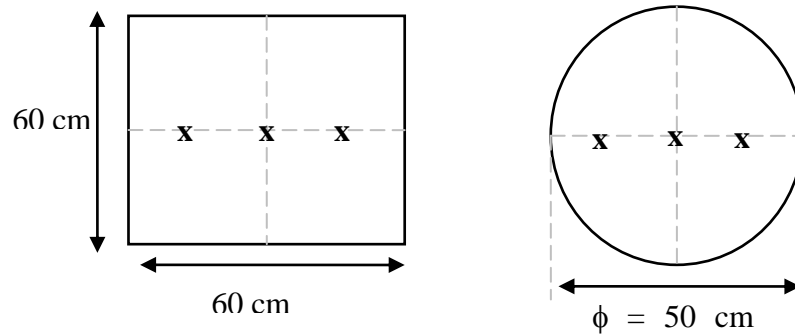


Figure 4-5. Schéma des points de mesure de débit dans la CTA9 en amont des filtres (section carrée) et en aval des filtres (section circulaire).

Pour une plage de débit entre 5000 et 7000 m³/h, la vitesse de filtration est comprise entre 1,4 et 1,9 m/s pour le filtre G4 et entre 0,3 et 0,4 m/s pour le filtre F7. D'après les données fabricant concernant le débit nominal et la surface des filtres, la vitesse de filtration nominale est de 0,9 m/s pour le filtre G4 et de 0,2 m/s pour le filtre F7. Il est important de retenir que les vitesses de filtration estimées pendant le fonctionnement de la CTA peuvent être donc 2 fois plus élevées que celles conseillées par le fabricant.

IV. Résultats et discussion

IV.1. Concentrations et distribution granulométrique des aérosols dans les gaines de ventilation

Les concentrations moyennes en nombre de particules C_N mesurées en amont et en aval de chaque filtre sur la **CTA9** et la **CEX9**, sont présentées dans le **Tableau 4-1**. Les mesures ont été réalisées pendant au moins 30 min à l'aide de 2 compteurs Grimm 1.108, avec une période de discrétisation de 1 min. Ces mesures ont eu lieu les jours de suivi, une fois par mois, en général entre 12h et 15h. Pour rappel, trois points de suivi ont été définis sur la **CTA9** : en amont du filtre G4 (**P1**), entre les deux filtres (**P2**) et en aval du filtre F7 (**P3**). De même, deux points de suivi ont été définis sur la **CEX9** : en amont du filtre G4 (**P1-Ext**) et en aval du filtre (**P2-Ext**).

Tableau 4-1. Concentration des particules mesurées dans les gaines de ventilation des 2 CTA (CTA9 et CEX9).

Date	C_N^* (part/cm ³)				
	P1	P2	P3	P1 - Ext	P2 - Ext
Mars (Installation des filtres le 29/03/13)	543 ± 18	447 ± 12	184 ± 16	50 ± 4	66 ± 4
Avril - 24/04/13	30 ± 3	23 ± 1	7 ± 0,4	11 ± 1	11 ± 1
Mai - 30/05/13	37 ± 2	28 ± 11	10 ± 5	15 ± 1	15 ± 0,3
Juin – 02/07/2013	38 ± 5	34 ± 4	12 ± 1	16 ± 2	13 ± 1
Juillet – 31/07/2013	27 ± 2	14 ± 2	5 ± 1	7 ± 1	6 ± 1
Août – 29/08/13	35 ± 2	29 ± 1	13 ± 1	18 ± 2	19 ± 7
Septembre – 26/09/13	191 ± 16	184 ± 30	55 ± 7	26 ± 2	23 ± 1

* Concentrations moyennes ± écart type

Pour **P1**, il est possible d'observer que pendant la période entre les mois d'avril à août, la concentration moyenne est relativement stable et comprise entre 27 et 38 part/cm³. En mars et en septembre, des concentrations particulièrement élevées sont détectées. Pendant les journées de suivi en mars et en septembre, l'humidité relative était supérieure à 90% en raison des conditions météorologiques pluvieuses. En conséquence, il est probable que la mesure n'ait pas été réalisée dans les conditions optimales d'utilisation du compteur (HR<95%). Les concentrations mesurées en **P2** et **P3** sont inférieures à celles détectées en **P1**, ce qui est un résultat attendu et cohérent qui démontre l'effet de la filtration pour l'élimination des particules.

Bien que le prélèvement de particules soit réalisé dans la gaine de ventilation, le point de mesure **P1** donne une approximation de la concentration en particules de l'air extérieur. De même, les concentrations en particules mesurées au point **P1-Ext** sont représentatives de la concentration en particules de l'air intérieur. Il est intéressant d'observer que les concentrations en **P1-Ext** sont inférieures à celles trouvées en **P1**. Les concentrations dans l'air soufflé en **P3** sont inférieures à celles extraites en **P1-Ext**, sauf en mars et en septembre. Ce qui suggère la présence de sources de particules dans les locaux ventilés.

Concernant la CEX9, les concentrations en aval du filtre, en **P2-Ext** sont comparables voire supérieures, dans certains cas, à celles trouvées en amont en **P1-Ext**. On pourrait s'attendre à une différence plus significative entre l'amont et l'aval du filtre **G4-CEX9**, comparable à

celle observée entre P1 et P2. L'explication de cette faible différence peut être due à une faible efficacité du filtre **G4-CEX9**. En effet, en comparant les valeurs d'efficacité fractionnelle des deux filtres G4, qui seront présentées et discutées plus loin dans ce chapitre, il est possible de percevoir une efficacité plus faible du filtre G4-CEX9 pour les particules inférieures à 3 μm . D'autre part, l'aéraulique de la gaine de ventilation peut expliquer aussi cette observation puisqu'un coude se situe juste avant le point de prélèvement en amont, ce qui peut créer de la turbulence et modifier l'écoulement, et donc perturber le prélèvement.

La distribution granulométrique moyenne en nombre des particules en amont et en aval de chaque filtre est présentée sur la **Figure 4-6** et sur la **Figure 4-7**, pour la **CTA9** et la **CEX9** respectivement. De manière générale, la fraction submicronique est prédominante. Il y a une fraction faible de particules supérieures à 1 μm . En effet de manière générale, 90% des particules sont inférieures à 0,5 μm .

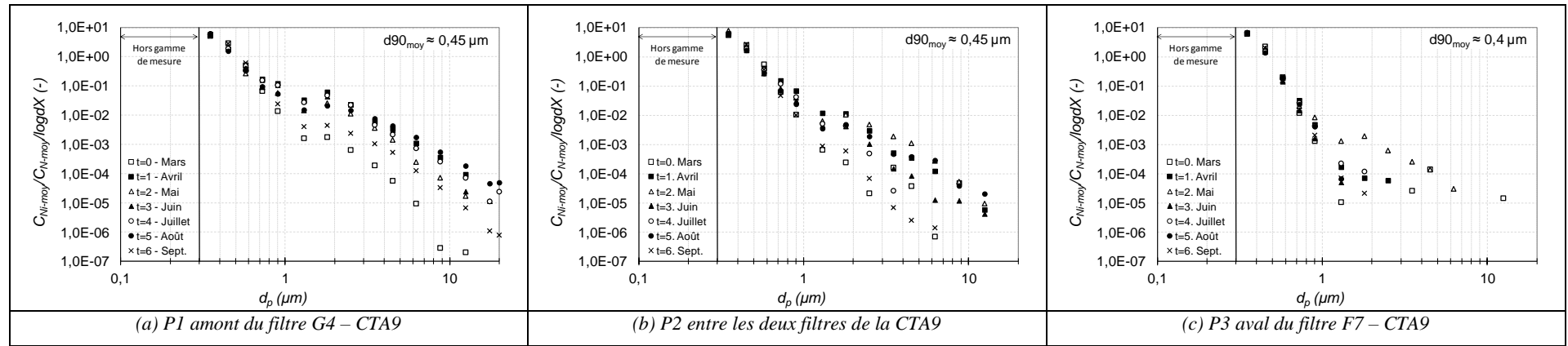


Figure 4-6. Distribution granulométrique en nombre des aérosols en amont et en aval de chaque filtre de la CTA9.

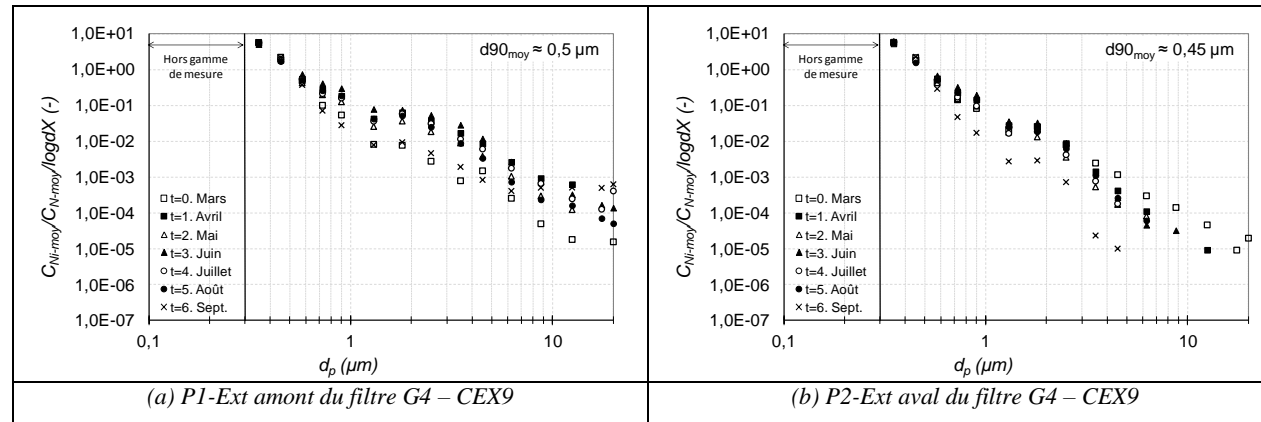


Figure 4-7. Distribution granulométrique en nombre des aérosols en amont et en aval du filtre G4 - CEX9.

Afin de comprendre un peu mieux la distribution granulométrique des particules, le diamètre moyen (arithmétique) a été calculé. Il est à noter que le diamètre médian (d_{50}) n'a pas pu être calculé pour la gamme de particules étudiée ($0,3\text{--}20\mu\text{m}$). En effet, la première classe de particules ($0,3 - 0,4 \mu\text{m}$) contenait plus de 50% du total des particules comptées. Le diamètre moyen est présenté sur la **Figure 4-8**, pour chaque point de mesure. Il est possible de conclure que le diamètre moyen varie très peu. De plus, dans tous les cas, le diamètre moyen des particules en aval des filtres est légèrement inférieur à celui des particules en amont, ce qui est un résultat attendu du fait que les filtres ont une efficacité de capture plus importante pour les particules microniques. Il faut également noter que l'aérosol provenant des locaux a un diamètre légèrement plus important et moins stable que celui qui est soufflé par la **CTA9**.

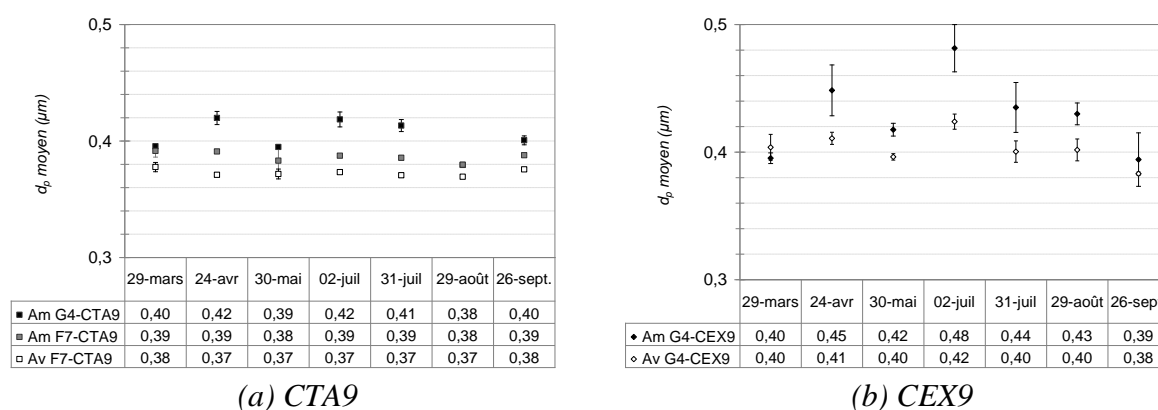


Figure 4-8. Diamètre moyen des particules en amont et en aval de chaque filtre des CTA9 et CEX9.

La distribution granulométrique des particules provenant de l'air extérieur a été également tracée en volume, en faisant l'hypothèse que les particules sont sphériques. Ceci, afin d'avoir une idée de la possible distribution en masse de ces particules. La distribution granulométrique en volume est présentée sur la **Figure 4-9**. Hormis pour le mois de mars, d'une manière générale, il est possible d'identifier deux modes. Le premier se trouve dans la zone comprise entre $0,3$ et $0,5 \mu\text{m}$. Le deuxième se trouve dans la zone comprise entre 3 et $6 \mu\text{m}$. Le d_{90} peut varier entre 7 et $17 \mu\text{m}$.

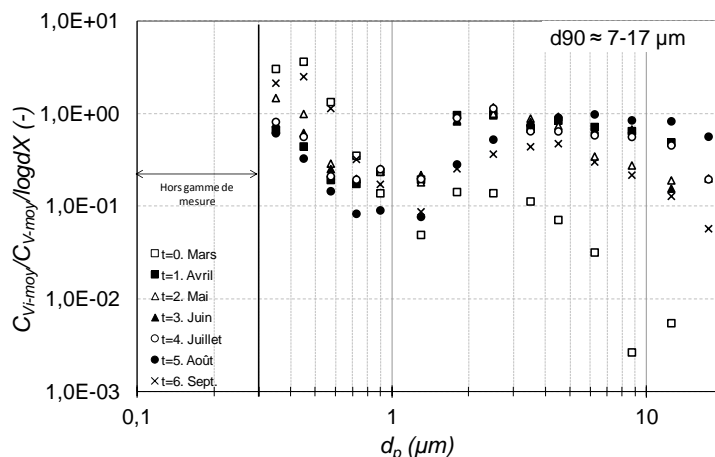
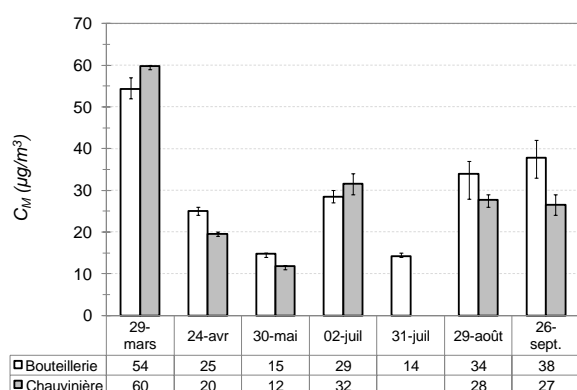


Figure 4-9. Distribution granulométrique en volume des particules provenant de l'air extérieur.

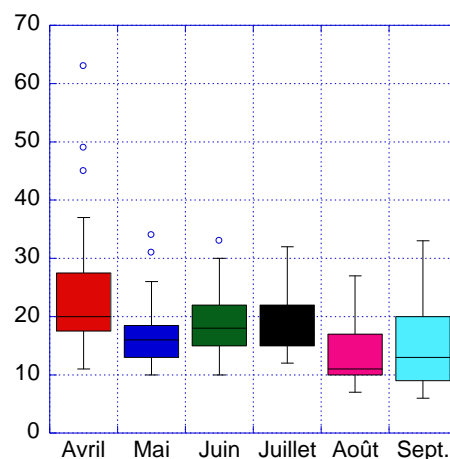
Afin de qualifier, d'une manière plus générale, l'air extérieur de la zone où les deux CTA d'étude se trouvent, les données de deux stations de qualité de l'air de l'organisme AIRPL²¹ ont été récupérées (**Figure 4-10**). La station Bouteillerie et la station Chauvinière se trouvent à 5 km au sud et à l'ouest respectivement des CTA en question. Toutes les deux se trouvent dans des zones périurbaines. Ces stations mesurent la concentration massique des particules PM10 à l'aide du compteur TEOM FDMS. Les concentrations moyennes en masse pendant la même période de suivi (mêmes dates et heures 12h et 15h, période de discrétisation : 15 min) des CTA sont présentées sur la **Figure 4-10a**. Les barres d'incertitude correspondent aux valeurs maximales et minimales dans la période d'intérêt. Les concentrations en masse observées fluctuent entre 10 et 40 μg/m³, hormis au mois de mars, durant lequel cette valeur a été dépassée. Ces concentrations sont comparables à la valeur moyenne limite sur 24 h définie par l'OMS de 50 μg/m³. Cette valeur représente « un objectif acceptable et réalisable pour réduire le plus possible les effets sanitaires en fonction des limitations locales, des moyens disponibles et des priorités de la santé publique ». En effet, il n'y a pas un seuil identifié au-dessous duquel il n'y a pas d'effet néfaste sur la santé. En conséquence, l'OMS déclare que « l'objectif est de parvenir à la plus faible concentration possible » (OMS, 2011).

Les concentrations mensuelles massiques des particules sont présentées sur la **Figure 4-10b**, sous la forme d'un diagramme à moustaches, pour la station Bouteillerie. Les concentrations médianes mensuelles sont inférieures à 20 μg/m³ pour la période comprise entre les mois d'avril à septembre.

²¹ Organisme de surveillance de la qualité de l'AIR dans les Pays de la Loire.



(a) Moyennes horaires pendant les périodes de suivi des CTA (12h – 15h)



(b) Moyennes mensuelles – Station Bouteillerie

Figure 4-10. Concentrations massiques de particules **PM10** détectées par deux stations de qualité de l'air du réseau de surveillance AIRPL situées à moins de 5 km des CTA étudiées.

Ces concentrations de particules permettent de conclure que la zone d'étude correspond à une zone peu polluée qui dépasse très rarement la limite définie par l'OMS.

IV.2. Performances des filtres

IV.2.1. Evolution de la ΔP des filtres en fonction du temps

L'évolution de la ΔP pour les filtres de la CTA9 et de la CEX9 est présentée, respectivement sur les **Figure 4-11** et **Figure 4-12**. Il est possible d'observer que pour le filtre **G4-CTA9** et **F7-CTA9**, la ΔP initiale est d'environ 75 Pa et 170 Pa respectivement. Après 6 mois de fonctionnement, la ΔP est d'environ 120 Pa pour le filtre G4 et de 185 pour le filtre F7, soit un ratio $\Delta P/\Delta P_0$ de 1,6 et de 1,1 respectivement. Il est possible d'observer qu'après 6 mois de fonctionnement, la ΔP du filtre F7 situé en deuxième étage n'évolue pas significativement. Ce comportement a été déjà observé pour les essais sur la mini CTA (chapitre 3). Il est important de noter que selon les données fabricant, la ΔP initiale du filtre F7 pour un débit nominal de 3400 m³/h est de 81 Pa,. En conséquence, la ΔP initiale du filtre F7 installé dans la CTA9 présente une valeur 2 fois plus importante, par rapport à celle conseillée par le fabricant, du fait d'un débit environ 2 fois plus important.

La perte de charge initiale du filtre **G4-CEX9** a été mesurée proche de 135 Pa. Après 6 mois de fonctionnement, la ΔP mesurée atteint une valeur d'environ 150 Pa, soit un ratio $\Delta P/\Delta P_0$ de 1,1. Pendant le mois de mai, il y a eu une perte de données pendant 20 jours due à un dysfonctionnement de l'analyseur (**Figure 4-12**).

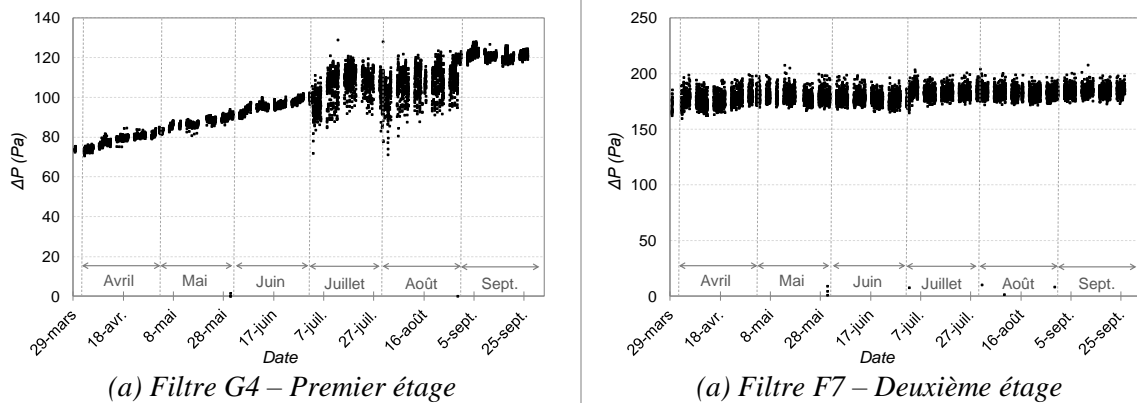


Figure 4-11. Evolution de la perte de charge (ΔP) pour les filtres G4 et F7 de la CTA9.

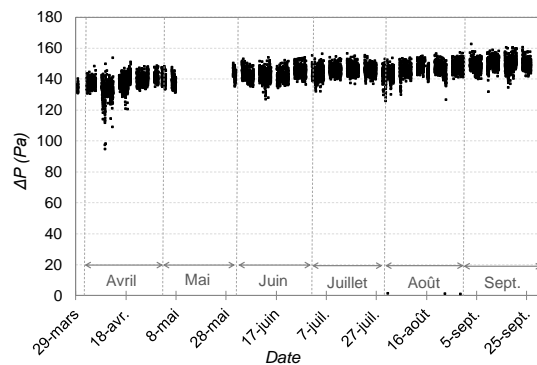


Figure 4-12. Evolution de la perte de charge (ΔP) pour le filtre G4 de la CEX9.

IV.2.2. Efficacité globale en nombre des filtres en fonction du temps

L'efficacité globale moyenne en nombre de chaque filtre étudié est présentée sur la **Figure 4-13**. Les barres d'incertitude correspondent à l'écart type de la mesure. Pour rappel, le comptage de particules a été réalisé pendant au moins 30 min à chaque point de suivi, pour toute la campagne de mesures. Il est possible d'observer que l'efficacité des 2 filtres G4 est comparable et qu'elle ne dépasse jamais 20%. Néanmoins, une légère augmentation est observée après 6 mois de fonctionnement pour le filtre **G4-CTA9**. Le filtre **F7-CTA9** présente des efficacités comprises entre 50 et 70%. Contrairement à la théorie de la filtration,

quels que soient les filtres (G4 ou F7), aucune augmentation significative de l'efficacité au cours du colmatage n'a pas été observée. Pour le filtre F7, ceci peut s'expliquer par le faible niveau de colmatage du filtre confirmé par la faible variation de la perte de charge pendant les 6 mois d'opération.

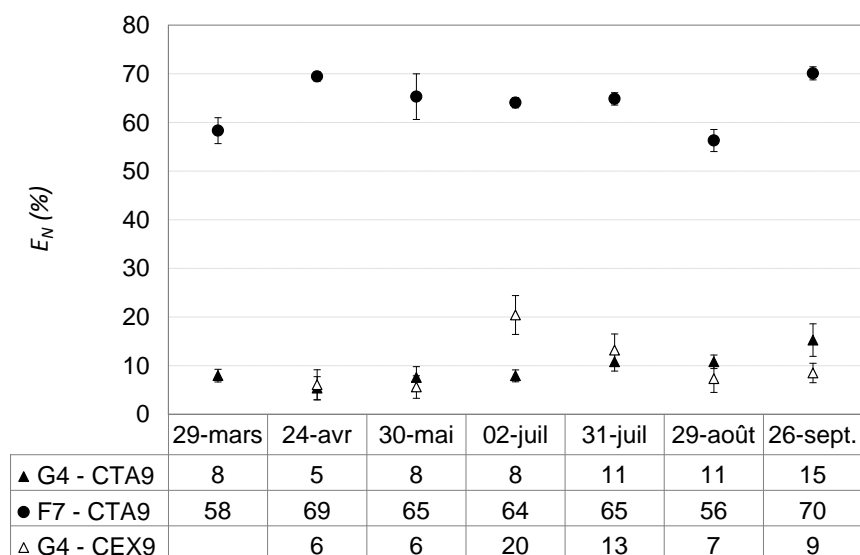


Figure 4-13. Efficacité globale en nombre des filtres G4 et F7 de la CTA9 et du filtre G4 de la CEX9.

IV.2.3. Efficacité fractionnelle des filtres

Les efficacités fractionnelles des filtres de la **CTA9** et **CEX9** sont présentées sur les **Figure 4-14** et **Figure 4-15** respectivement. Pour les filtres G4, la MPPS se situe dans la zone 0,3 - 0,6 μm . Dans cette zone, l'efficacité est inférieure à 10%. Pour le filtre F7, la MPPS se situe vers 0,3 μm où l'efficacité est d'environ 50%. A titre de comparaison, l'efficacité initiale vis-à-vis des particules de DEHS à 0,4 μm donnée par le fabricant est de 64%. L'efficacité du filtre F7 de la CTA9 pour cette taille de particules est inférieure et elle est comprise entre 55% et 60%. La nature de l'aérosol et la vitesse de filtration peuvent expliquer en partie cette différence comme discuté plus loin dans ce chapitre. Il est difficile de dégager une tendance d'évolution de l'efficacité fractionnelle au cours du colmatage des filtres. Il est à noter que, bien que la distribution granulométrique des aérosols semble relativement stable ($d_{90} \approx 0,5$), la nature des aérosols est inconnue. Cette donnée peut être importante pour comprendre les performances des filtres vis-à-vis d'un aérosol urbain dans le cas où ce type d'aérosol présenterait une fraction hygroscopique particulière qui peut être variable au cours du temps en fonction des conditions météorologiques.

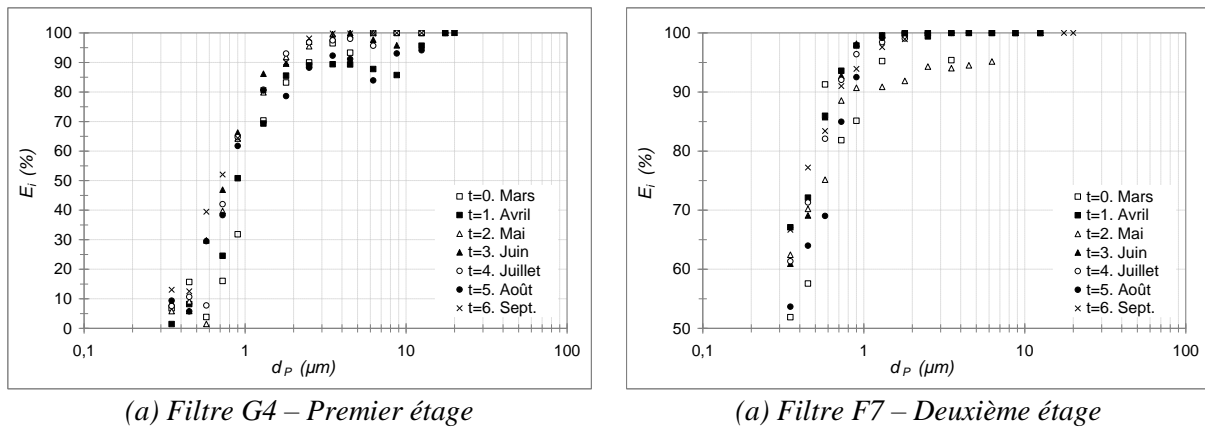


Figure 4-14. Efficacités fractionnelles des filtres G4 et F7 de la CTA9.

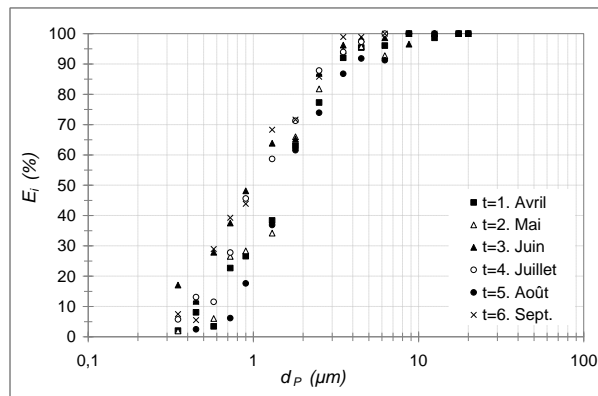


Figure 4-15. Efficacités fractionnelles du filtre G4 de la CEX9.

Il est intéressant de noter que les filtres G4-CTA9 et G4-CEX9 présentent des valeurs de MPSS comprises entre 0,3 et 0,6 μm . L'efficacité pour cette gamme de taille de particules est inférieure à 10%. D'autre part, pour une taille de particules de 1 μm , le filtre G4-CTA9 présente une efficacité d'environ 65% tandis que le filtre G4-CEX9 présente une efficacité comprise entre 25 et 45%. De même, pour une taille de particules de 3 μm , le filtre G4-CTA9 présente une efficacité supérieure à 90%, tandis que le filtre G4-CEX9 présente une efficacité comprise entre 80 et 90%. Ces différences peuvent s'expliquer, notamment par la différence de nature et de morphologie entre les particules de l'air extérieur et celles de l'air intérieur. De plus, la différence entre les ΔP de ces deux filtres G4 (**Figure 4-11a** et **Figure 4-12**) montre que le débit, et par conséquent la vitesse de filtration, dans la gaine de la CEX9 est plus important que celui de la CTA9. Ceci peut défavoriser l'efficacité du mécanisme de collecte par diffusion brownienne, ce qui peut être le mécanisme prépondérant pour la filtration des petites particules.

IV.3. Comparaison des performances des filtres à l'échelle laboratoire et en conditions réelles vis-à-vis des particules

Après ces constats réalisés sur site concernant les performances des filtres G4 et F7, les questions suivantes peuvent être posées. Les filtres de la CTA9 travaillent-ils dans des conditions opératoires adéquates ? Ces observations sur site, valident-elles les observations réalisées pendant les essais sur mini CTA ?

Pour répondre à ces questions, dans un premier temps, une discussion est proposée sur la comparaison des performances des filtres testés sur mini CTA et des filtres installés sur site. Pour rappel, les filtres testés sur mini CTA sont des filtres prototypes ayant des efficacités et des ΔP initiales comparables à celles des filtres industriels. Il faut savoir également que la vitesse de filtration sur mini CTA a été de 0,7 m/s pour le filtre G4 et de 0,1 m/s pour le filtre F7, ce qui est proche des valeurs de vitesses nominales. Ceci n'est pas le cas des filtres de la CTA9 qui opèrent à des vitesses de filtration deux fois plus importantes.

La masse de particules collectées sur les filtres a été estimée à partir de la pesée des filtres après 8 mois de fonctionnement. Sur les filtres G4 et F7 il a été trouvée une masse collectée de particules de 187 et 11 g/m² respectivement. L'hypothèse d'une collecte linéaire en fonction du temps est faite afin de construire les courbes d'évolution de la ΔP en fonction de la masse déposée sur les filtres comme présentée sur la **Figure 4-16**. Cette hypothèse forte peut être justifiée par la faible évolution de l'efficacité des filtres durant les 6 mois de l'étude et par la concentration de particules relativement constante qui a été mesurée en amont des filtres (hormis les événements pluvieux des mois de mars et septembre). En conséquence, après 6 mois de fonctionnement, il a été estimé une masse déposée de 141 et 9 g/m² sur les filtres G4 et F7 de la CTA9 respectivement.

L'efficacité des filtres pour différentes tailles de particules a été également tracée en fonction de la masse de particules collectées, pour les filtres testés en mini CTA et pour les filtres de la CTA9. Les courbes d'efficacité sont présentées sur la **Figure 4-17** et sur la **Figure 4-18**, pour les filtres G4 et F7 respectivement. Quatre tailles de particules ont été étudiées : 0,4 / 0,8 / 1 et 3 μm .

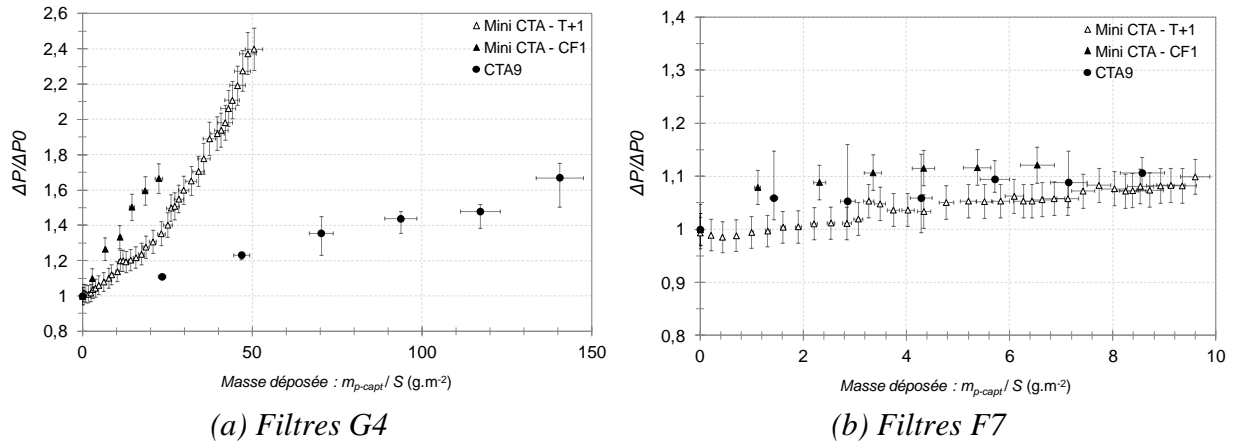


Figure 4-16. Evolution de la ΔP en fonction de la masse déposée sur les filtres G4 et F7 de la CTA9 en comparaison avec celle présentée par les filtres testés sur la mini CTA.

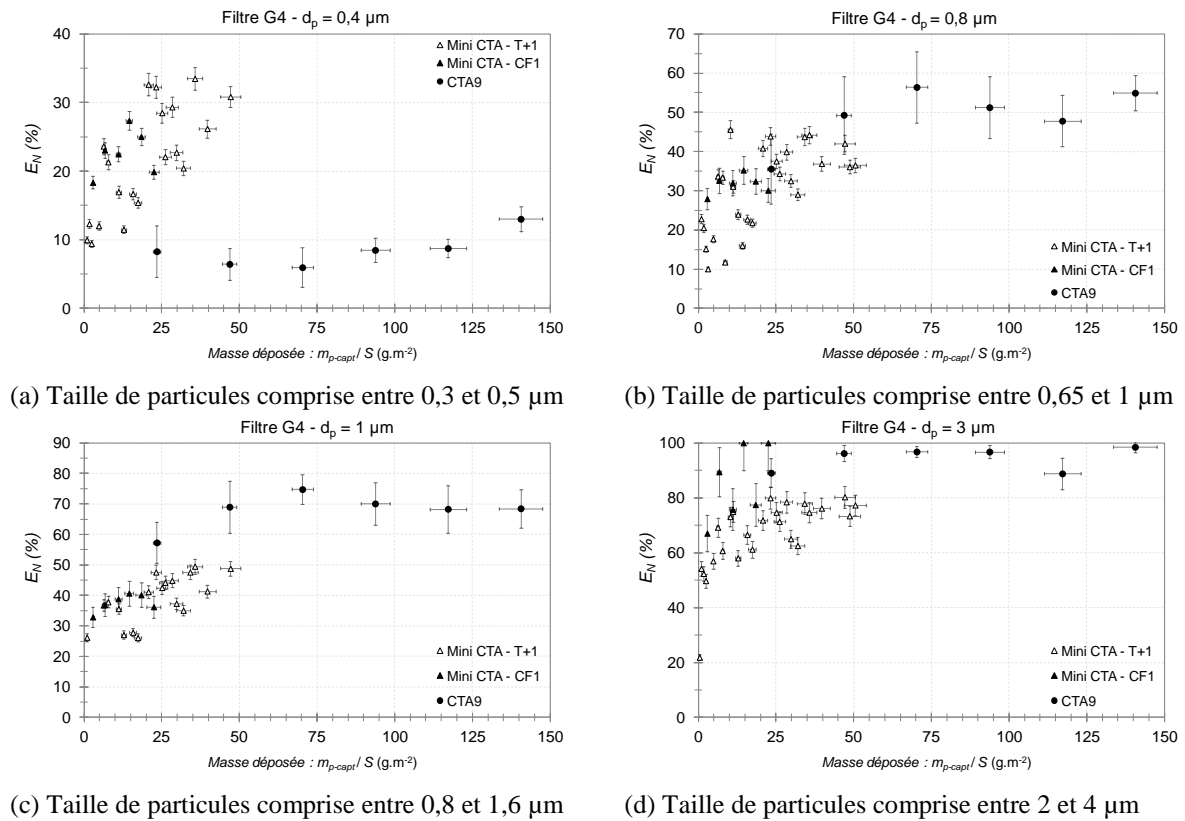


Figure 4-17. Comparaison de l'évolution de l'efficacité en nombre pour différentes tailles de particules en fonction de la masse déposée, pour les filtres G4 de la CTA9 et de la mini CTA.

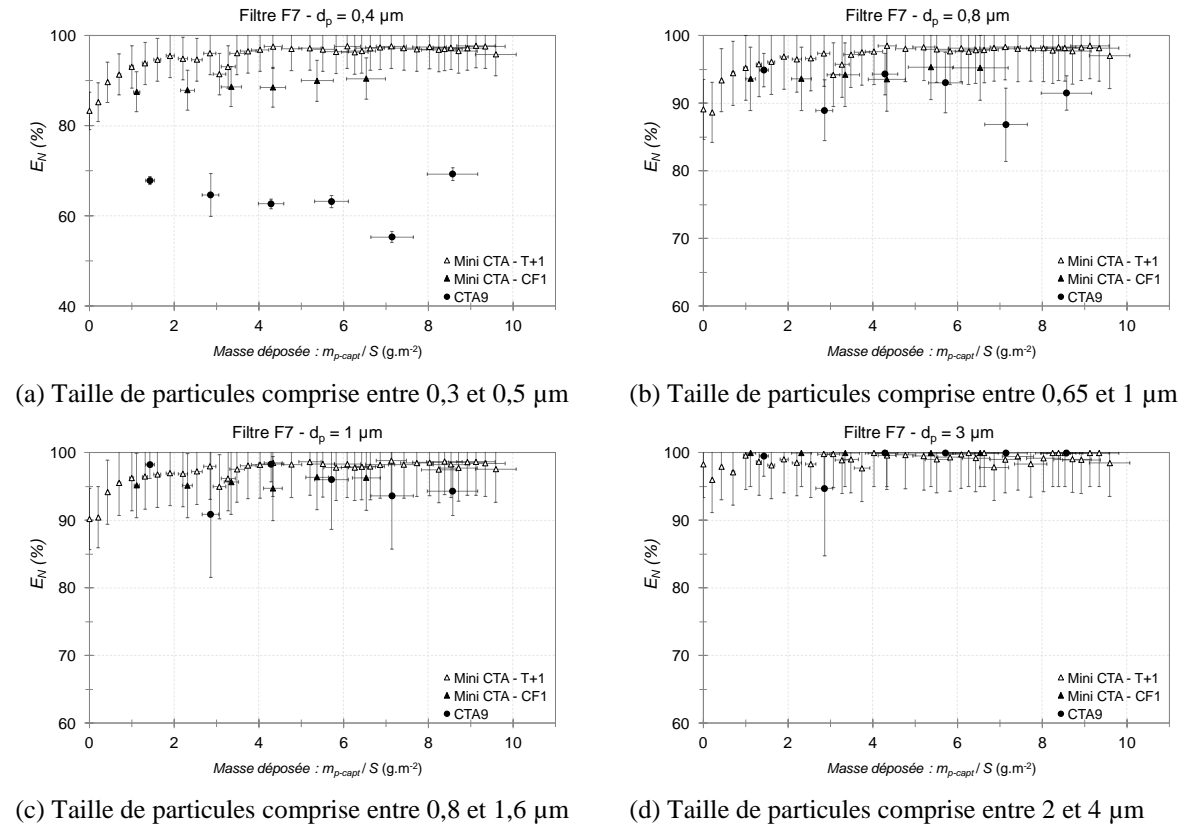


Figure 4-18. Comparaison de l'évolution de l'efficacité en nombre pour différentes tailles de particules en fonction de la masse déposée, pour les filtres F7 de la CTA9 et de la mini CTA.

Concernant la ΔP , pour les filtres G4, son évolution pour le filtre G4-CTA9 est plus lente par rapport à celle des filtres prototypes pour les deux essais présentés **T+1** et **CF1**, sur mini CTA. Par exemple, pour une masse de particules déposées de 50 g/m^2 , le ratio $\Delta P/\Delta P_0$ pour le filtre G4-CTA9 est de 1,2 tandis que pour le filtre **G4-T+1**, il est de 2,4. Pour les filtres F7, les évolutions de la ΔP ne présentent pas de différence significative entre les essais sur mini CTA et la CTA9. Le ratio $\Delta P/\Delta P_0$ reste proche de 1,1 pour une masse de particules déposées d'environ 10 g/m^2 . Cela correspond vraisemblablement à la phase de filtration en profondeur, durant laquelle la ΔP évolue lentement et de manière linéaire.

Il est possible d'observer que la masse collectée par unité de surface de filtre est 10 fois plus importante sur le filtre G4 que sur le filtre F7. Ceci s'explique par le fait que la charge de particules en amont du filtre G4 est plus importante puisqu'il est placé en premier étage. De plus, la surface développée des filtres F7 à poches est 5 fois plus importante que celle des filtres G4, que ce soit les filtres prototypes ou les filtres industriels. Enfin, il est important de se rappeler que le filtre F7 est un média filtrant multicouches d'une épaisseur presque 3 fois

plus importante par rapport à celle du filtre G4. Ainsi, la surface spécifique des fibres du filtre F7 étant plus importante et leur diamètre étant plus fin, cela conduit à un dépôt en profondeur des particules plus important que dans le G4 ce qui retarde la formation du gâteau en surface.

Concernant l'efficacité des filtres, il est possible d'observer que pour les particules d'environ **0,4 μm** , zone qui comprend la MPPS, l'efficacité en nombre des filtres de la CTA9 est significativement inférieure à celles présentées par les filtres prototypes dans la mini CTA, que ce soit les filtre G4 ou F7. Pour les particules d'environ **0,8 μm** , l'efficacité des filtres de la CTA9 est comparable à celles des filtres prototypes dans la mini CTA, que ce soit pour les filtres G4 ou F7. Pour une taille de particules d'environ **1 μm** , qui est une taille représentative des spores bactériennes, notamment la souche utilisée en laboratoire *B. subtilis*, l'efficacité du filtre G4-CTA9 est supérieure à celle des filtres prototypes. Pour cette taille de particules, l'efficacité présentée par les filtres F7 est comparable pour la CTA9 et la mini CTA. Enfin, pour les particules proches de **3 μm** de diamètre, qui est un diamètre caractéristique de spores fongiques, notamment la souche *A. niger* utilisée dans cette étude au laboratoire, l'efficacité du filtre G4-CTA9 est supérieure à celle présentée par les filtres prototypes.

Pour les filtres F7 l'efficacité pour cette taille de particules est comparable pour la CTA9 et la mini CTA. Pour analyser les différences trouvées, il est possible d'évoquer différents éléments de discussion :

- **Diamètre des particules.** Pour rappel, la distribution granulométrique en nombre des particules d'alumine utilisées pour le colmatage des filtres sur la mini CTA présente un d90 de 0,7 μm . La distribution granulométrique en nombre de l'aérosol urbain mesurée dans la CTA9, établit un d90 de 0,45 μm . Tenant compte du fait que la granulométrie des particules dans les deux cas est mesurée avec deux compteurs différents, il semble que l'aérosol urbain soit plus fin que l'alumine. Thomas *et al.* (2001) a étudié l'influence du diamètre de particules sur l'évolution de la ΔP pendant le colmatage des filtres fibreux avec des aérosols solides. Les auteurs de cette étude expliquent que les particules ayant un faible diamètre présentent des surfaces spécifiques plus grandes ce qui conduit à une ΔP du gâteau de filtration plus importante lors du colmatage. Ce qui n'est pas observé sur la **Figure 4-16**. En

conséquence, l'évolution de la ΔP des filtres sur site en comparaison avec celle des filtres dans la mini CTA ne s'explique pas par la différence de granulométrie des particules.

- Il est important de remarquer que pour l'aérosol urbain traité dans la CTA9, du fait de sa granulométrie qui révèle un d_{50} inférieur à $0,3 \mu\text{m}$, le mécanisme de diffusion brownienne peut être prépondérant pour la capture des particules sur les filtres. Pour rappel, c'est le mécanisme de collecte prépondérant pour les particules inférieures à la MPPS du filtre et son efficacité est plus importante pour des vitesses de filtration faibles.
- **Nature des particules.** La nature des particules, et donc leur masse volumique, diffère entre les deux types de résultats. Ce paramètre influe sur l'efficacité de collecte par impaction inertielle. En effet, la masse volumique de l'alumine (3950 kg/m^3) peut être jusqu'à 2 fois plus importante que celle d'un aérosol urbain dont la valeur dépend des sources d'émission et varie au cours de la journée ; à titre d'exemple, Pitz *et al.* (2003) ont déterminé une valeur moyenne journalière comprise entre $1600 \pm 500 \text{ kg/m}^3$.
- **Vitesse de filtration.** Pour rappel, la vitesse de filtration dans la CTA9 est 2 fois plus importante que pour les essais mini CTA. Cela influe sur l'efficacité de collecte des particules, notamment par diffusion brownienne, qui est le mécanisme vraisemblablement prépondérant dans la CTA9 compte tenu du $d_{90} = 0,4 \mu\text{m}$. Une vitesse plus importante diminue l'efficacité de ce mécanisme. Cela conduit donc à la diminution de la MPPS du filtre vers les plus faibles diamètres. De plus, l'augmentation de la vitesse de filtration favorise le mécanisme de collecte par impaction inertielle pour des particules de diamètre supérieur à $0,65 \mu\text{m}$.

Ainsi, en considérant les 3 mécanismes de collecte que sont la diffusion brownienne, l'interception directe et l'impaction inertielle, la vitesse de filtration ainsi que la masse volumique des particules sont deux paramètres influençant les courbes d'efficacité. Concernant l'efficacité par diffusion brownienne, l'augmentation de la vitesse de filtration diminue sa valeur. Pour l'impaction inertielle, la masse volumique des particules et la vitesse de filtration influencent toutes deux son efficacité ; l'efficacité

est optimale lorsque la vitesse de filtration et la masse volumique des particules sont importantes. Ainsi, la baisse de l'efficacité sur la CTA9 due à la masse volumique plus faible de l'aérosol urbain (comparativement à l'alumine) est compensée par une vitesse de filtration plus grande que dans la mini CTA. L'efficacité du mécanisme d'interception quant à elle dépend de la nature du média filtrant (diamètre de fibres et compacité) qui est la même dans les 2 cas d'étude. A titre d'illustration, la **Figure 4-19** propose une modélisation de l'efficacité de collecte des filtres G4 pour les conditions de la mini CTA (alumine à 0,7 m/s) et de la CTA9 (aérosol urbain de 1500 kg/m³ à 1,7 m/s), d'après le modèle de Gougeon (1994).

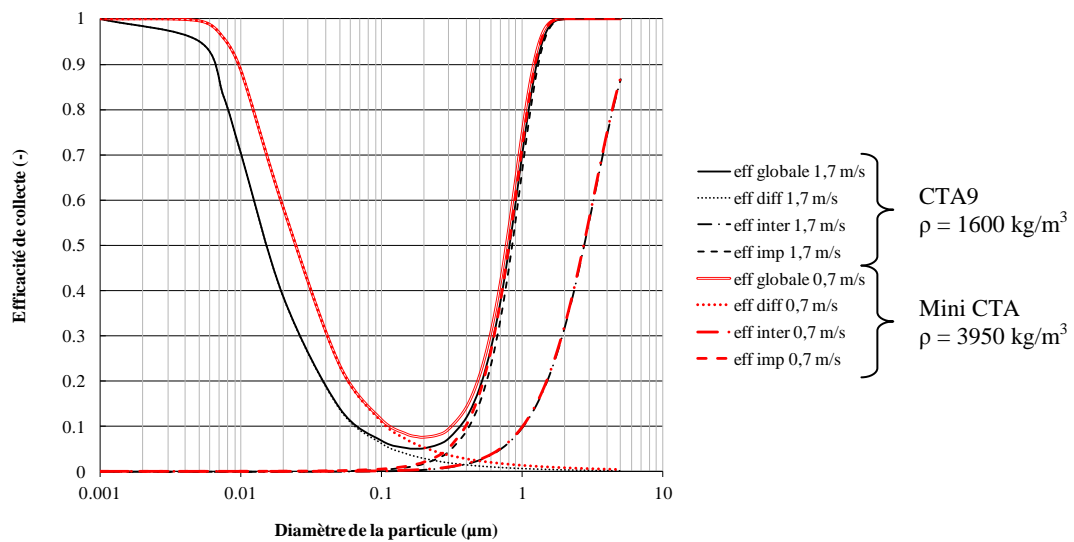


Figure 4-19. Modélisation de l'efficacité de collecte des filtres G4

La modélisation théorique confirme les résultats observés sur la **Figure 4-17a** et la **Figure 4-18a**, pour le filtre G4 et F7 respectivement, vis-à-vis des particules d'environ 0,4 μm, à savoir une efficacité de collecte plus faible dans la CTA9. En conséquence, il est possible d'imaginer que sur les filtres de la CTA9, le gâteau de particules formé soit constitué majoritairement de particules de diamètres plus importants que dans la mini CTA, donc probablement un gâteau de particules plus aéré, ce qui se traduit par une perte de charge plus faible. De même, les filtres testés dans la mini CTA peuvent présenter un gâteau constitué par un mélange de particules submicroniques et microniques, en conséquence un gâteau moins aéré, donc plus résistant à l'écoulement, ce qui se traduit par une perte de charge plus importante. Ce gâteau contribue aussi à

une augmentation de l'efficacité de collecte. Un schéma expliquant cette observation est présenté sur la **Figure 4-20**.

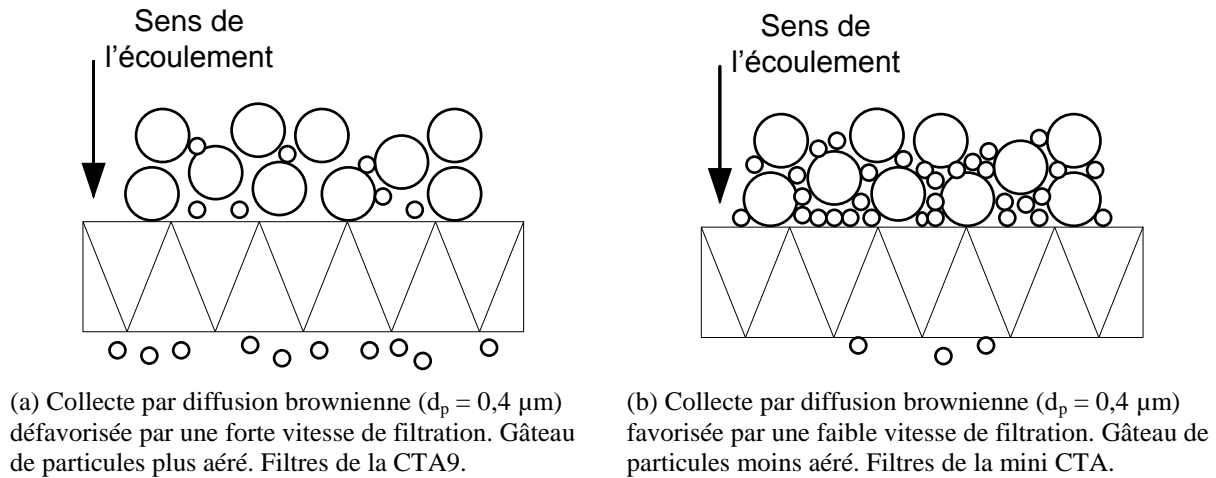


Figure 4-20. Schéma de la structure possible du gâteau de particules formé sur les filtres

Pour des tailles de particules supérieures à la MPPS, les efficacités de collecte par les mécanismes d'impaction et d'interception sont comparables dans la mini CTA et la CTA9. En effet, la vitesse de filtration et la masse volumique des particules n'influencent pas le mécanisme d'interception et pour l'impaction, les effets croisés se compensent. Ceci peut expliquer les résultats expérimentaux obtenus pour les particules de tailles plus importantes, car les filtres de la CTA9 présentent des efficacités comparables à celles présentées par les filtres testés sur la mini CTA.

- **Arrêts/Reprises de la ventilation.** Pendant les arrêts prolongés de la ventilation de la CTA9 qui peuvent varier entre 9 h et 4 jours, en fonction de la nature des particules collectées, et de l'HR dans la CTA9, il peut y avoir des phénomènes de rétention d'eau ou d'assèchement sur le filtre. De plus, pendant la reprise de la ventilation, des phénomènes de relargage de particules, de rebond de particules du fait de la perturbation de l'écoulement, ou alors de réarrangement du gâteau des particules peuvent avoir lieu sur les filtres. Probablement, ces phénomènes influent sur l'évolution des performances des filtres.
- **Humidité relative/nature des particules.** Les conditions de colmatage sur mini CTA, en termes d'humidité relative, étaient contrôlées, sans variation importante. Ce qui

n'est pas le cas sur le site où les conditions de colmatage obéissent aux conditions de l'air extérieur qui peuvent être très variables. Les valeurs d'HR de l'air en amont des filtres dans la CTA9 peuvent varier entre 20 et 80% comme présenté, ci-dessous, sur la **Figure 4-21**.

Sur les filtres de la CTA9, des phénomènes de rétention d'eau par les fibres et par le gâteau de particules peuvent avoir lieu, ainsi que des phénomènes d'assèchement. Cette dynamique est complexe à expliquer et elle peut probablement conduire à des réarrangements du gâteau de particules ainsi qu'à des modifications de l'évolution de la perte de charge. Sur la mini CTA une diminution de la ΔP des filtres préalablement colmatés avec des particules solides de nature organique et inorganique a été observée, provoquée par la filtration d'aérosols liquides (aérosols microbiens). Ce phénomène, observé également par Joubert (2009), peut se présenter aussi sur le filtre de la CTA9 si les particules retenues sont hygroscopiques. De même, pendant le colmatage de filtres à très haute efficacité à petit plis, Joubert (2011) a montré que pour une même masse de particules déposées, le filtre présente un ratio $\Delta P/\Delta P_0$ plus faible pour des conditions plus humides. L'auteur explique que les forces d'adhésion entre les particules augmentent en présence d'humidité, conduisant ainsi à la formation d'un gâteau plus aéré. Cette observation a été faite pour un aérosol submicronique hygroscopique.

Une caractérisation chimique de l'aérosol urbain permettrait de mieux comprendre la possible influence de l'humidité de l'air sur le gâteau de particules et donc les performances du filtre.

IV.4. Paramètres climatiques

IV.4.1. Variations de l'humidité relative (HR) et de la température (T)

Les valeurs d'humidité relative enregistrées en aval des filtres (P3) et estimées en P1 et en P2 sont présentées sur la **Figure 4-21** et **Figure 4-22**, pour la CTA9 et la CEX9 respectivement. Ces résultats sont présentés sous la forme d'un diagramme « boîte à moustaches ». Pour rappel, l'humidité relative et la température ont été suivies en continu. En conséquence, ces diagrammes ont été construits à partir des données récupérées pendant 1 mois de suivi (1 min, comme période d'enregistrement).

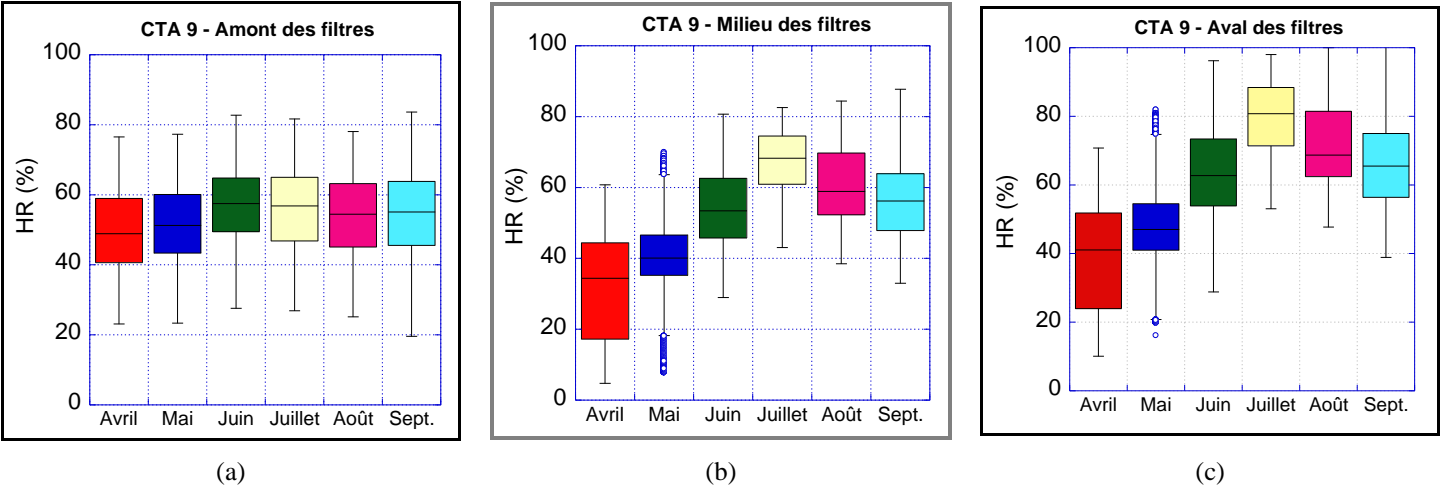


Figure 4-21. Humidité relative pour la CTA 9 pendant les 6 mois de suivi.

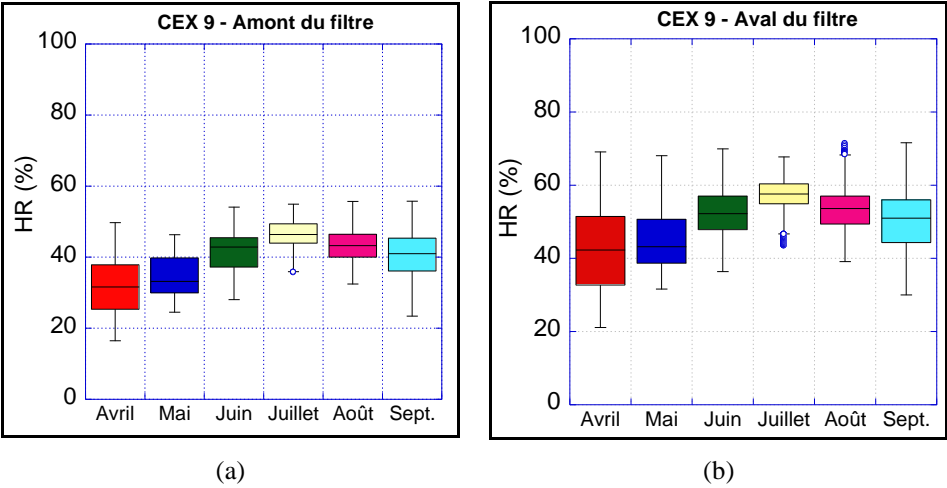


Figure 4-22. Humidité relative pour la CEX 9 pendant les 6 mois de suivi

L'HR en P1 et P2 a été calculée à partir de l'HR enregistrée en P3 et les valeurs de température enregistrées à chaque point. Dans un premier temps, pour le point P3, la pression de vapeur saturante (P_{ws}), la pression de vapeur (P_w) et l'humidité absolue (HR_A) ont été calculées à partir des corrélations suivantes (VAISALA, 2013) :

$$P_{ws} = A \cdot 10^{\left(\frac{m \cdot T}{T + T_n}\right)} \quad (hPa) \quad ; \quad T \text{ en } (^{\circ}C)$$

$$P_w = \frac{HR \times P_{ws}}{100\%}$$

$$HR_A = \frac{C \times P_w}{T} \quad \left(\frac{g}{m^3}\right) \quad ; \quad T \text{ en } (K), P \text{ en } (Pa)$$

Où :

$A = 6,116441$ (pour une gamme de T entre -20 et 50°C)

$m = 7.591386$ (pour une gamme de T entre -20 et 50°C)

$T_n = 240,7263$ (pour une gamme de T entre -20 et 50°C)

$C = 2.16679 \text{ gK/J}$

Sachant que l'humidité absolue se conserve dans le système, l'HR en P1 et en P2 a été estimée en utilisant les mêmes corrélations décrites ci-dessus. Il est important de noter que la corrélation pour le calcul de P_{ws} correspond à une équation simplifiée qui peut entraîner une erreur maximale de 0,01% (VAISALA, 2013). Ces estimations de l'HR ont été vérifiées par rapport à des valeurs que l'on pourrait retrouver à l'aide du diagramme psychométrique ou de logiciels dédiés aux calculs des paramètres climatiques de l'air.

Concernant la **CTA9**, en amont des filtres, il est possible d'observer que la valeur médiane d'HR varie entre 45 et 60% pendant la période totale de suivi (**Figure 4-21a**). Des valeurs maximales et minimales, d'environ 20 et 80% respectivement, ont été observées. La tendance sur les 6 mois d'observation est relativement stable. Entre les deux filtres (P2), il est possible d'observer des variations plus importantes d'HR (**Figure 4-21b**). Les mois d'avril et mai présentent les valeurs médianes d'HR les plus faibles, environ 40%. En juillet, la valeur médiane d'HR est d'environ 70%. Il faut se rappeler qu'une batterie froide/chaude est située entre les deux filtres, ce qui modifie l'HR. En aval des filtres, des variations sont observées en suivant la même tendance obtenue pour P2. A ce point-là, pendant les mois d'août et

septembre, des humidités importantes proches de la saturation de l'air ont été observées. En aval de la mesure d'HR, des opérations de régulation de l'HR sont réalisées dans la **CTA9** afin de s'adapter à la consigne d'HR requise dans les locaux.

Concernant la **CEX9**, il est possible d'observer que les valeurs médianes d'HR en amont du filtre oscillent entre 30 et 45%. En aval des filtres, les valeurs médianes oscillent entre 40 et 60%. L'HR est généralement supérieure à celle à l'amont des filtres.

La température enregistrée à chaque point de mesure est présentée sur les **Figure 4-23** et **Figure 4-24** pour la **CTA9** et la **CEX9** respectivement. Concernant la **CTA9**, en amont des filtres, la température médiane la plus élevée est observée en juillet, environ 22°C, tandis que la plus faible est observée en avril aux alentours de 13°C. Entre les deux filtres, pendant les mois d'avril et de mai, il est possible d'observer des températures jusqu'à 40°C. Ceci s'explique par le fonctionnement des batteries chaudes, ce qui explique en même temps la diminution de l'HR à ce point par rapport à l'HR en amont des filtres. En effet, le fait de chauffer l'air entraîne une diminution de l'HR. La température médiane pendant les 6 mois de suivi est assez stable aux alentours de 17°C. En aval des filtres (air soufflé), les températures médianes sont assez stables aux alentours de 17°C.

Concernant la **CEX9**, en amont du filtre (air extrait) les températures fluctuent entre 20 et 25°C. En aval du filtre, la température est légèrement plus faible et elle fluctue entre 12 et 22°C.

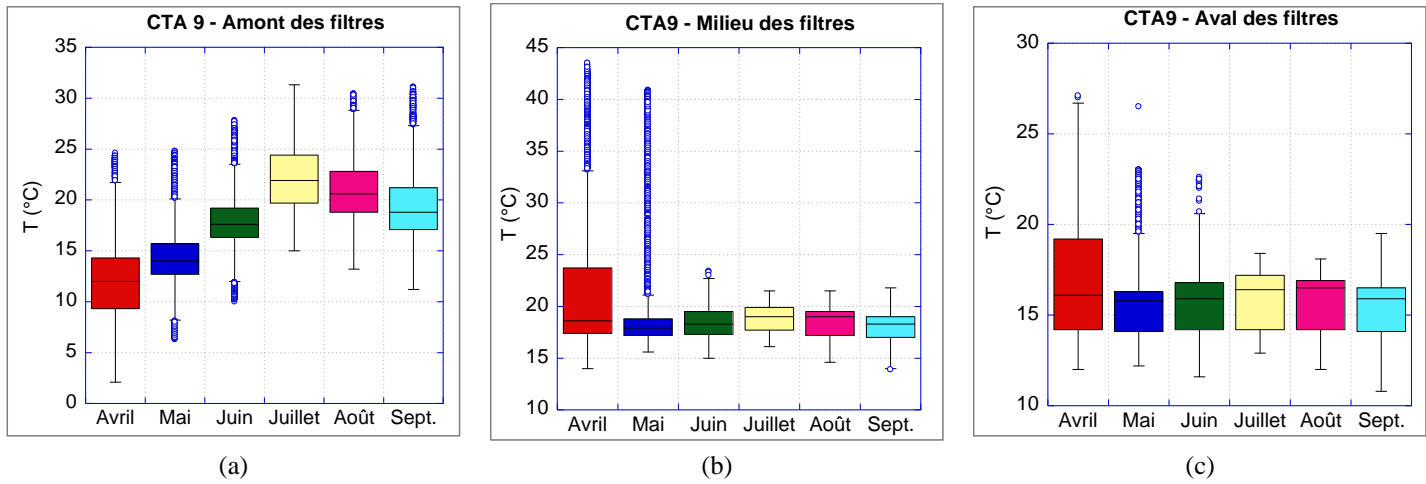


Figure 4-23. Température de l'air dans la CTA9 pendant les 6 mois de suivi.

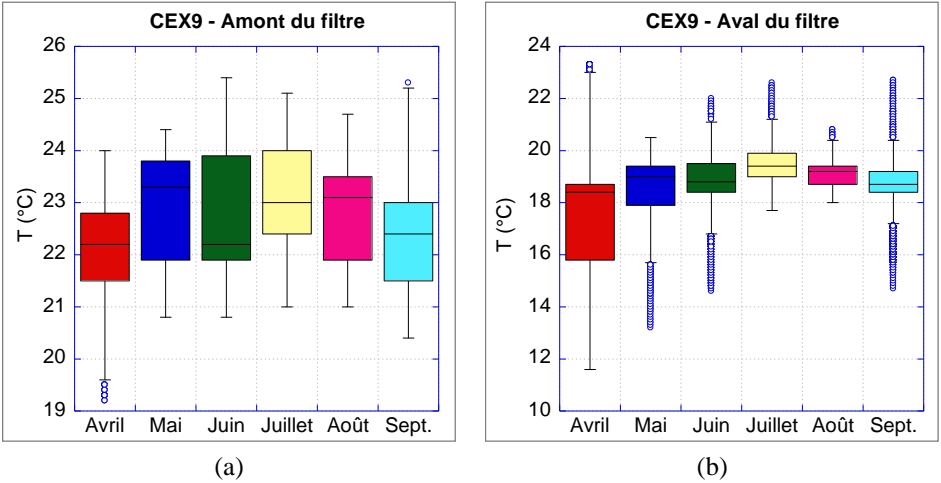


Figure 4-24. Température de l'air dans la CEX9 pendant les 6 mois de suivi

IV.5. Quantification de la concentration d'AM dans l'air

Les résultats des prélèvements d'air dans les gaines de ventilation par Biosampler sont présentés sur les **Figure 4-25** et **Figure 4-26**, pour la **CTA9** et la **CEX9**. L'humidité relative pendant les prélèvements est également affichée sur les graphiques. La concentration de microorganismes dans l'air a été mesurée à chaque point de prélèvement, en amont et en aval de chaque filtre. Une limite de quantification (**LQ**) de 10 UFC/mL est utilisée pour la mesure à partir des solutions de collecte du Biosampler (dénombrement généralement estimée comme statistiquement valide). Compte tenu du volume du liquide collecteur dans le Biosampler à la fin du prélèvement, et du temps d'échantillonnage, la limite de quantification est estimée à 70 UFC/m³ d'air. Néanmoins, il est possible d'obtenir des concentrations inférieures à cette valeur, dans les cas où il est observé moins de 10 UFC/mL sur les boîtes de Petri. La limite de détection (**LD**) a été fixée à 1 UFC/mL, soit 7 UFC/m³ d'air. Les concentrations présentées correspondent à des valeurs moyennes issues d'un comptage de 3 étalements sur boîtes de Petri. Les barres d'incertitude correspondent aux valeurs maximales et minimales.

Sur la **Figure 4-25a**, les concentrations de microorganismes mesurées en amont des filtres sont présentées, pour chaque milieu de culture étudié. Pour rappel, comme présenté dans le **Chapitre 2**, le milieu RBC est le seul milieu spécifique parmi les trois milieux utilisés qui permet la quantification des espèces fongiques. La gélose nutritive convient pour la détection d'un large éventail de microorganismes hétérotrophes, prioritairement la croissance de plusieurs espèces bactériennes. Le milieu Czapek est un milieu utilisé pour la culture de champignons de l'environnement. A partir du mois de juin, des concentrations d'environ 100 UFC/m³ sont mesurées sauf pour le mois d'août où il y a une baisse importante. Pendant les mois de mars et avril, la concentration est d'environ 10 UFC/m³. Entre les deux filtres (**Figure 4-25b**) les concentrations de microorganismes sont bien inférieures à celles de l'amont. Les concentrations moyennes se trouvent aux alentours de 10 UFC/m³, bien en dessous de la limite de quantification. Sur la **Figure 4-25c**, les concentrations de microorganismes dans l'air en aval du filtre F7 sont présentées, c'est-à-dire de l'air soufflé vers les locaux. Les concentrations sont faibles et elles fluctuent autour de 10 UFC/m³.

Les concentrations de microorganismes mesurées pendant le démarrage de la CTA après un week-end d'arrêt sont également présentées sur le graphique **Figure 4-25b** et **Figure 4-25c**, pour l'aval du filtre G4 et F7 respectivement. Deux mesures ont été réalisées lors des reprises de la ventilation : **R1** (réalisée le 29 juillet 2013) et **R2** (réalisée le 2 septembre 2013). Afin d'obtenir un échantillon représentatif de l'éventuel relargage des microorganismes, le temps de prélèvement a été défini à 15 min, afin de n'échantillonner que pendant les premières minutes suite au démarrage. Ainsi, la limite de quantification pour le relargage a été redéfinie à 1000 UFC/m³ (**LQ_R**), soit une limite de détection de 100 UFC/m³ (**LD_R**). En aval du filtre G4 une concentration d'environ 1000 UFC/m³ a été observée, déterminée par comptage de colonies sur gélose nutritive, pendant la première campagne de mesures (**R1**). En aval du filtre F7 une concentration d'environ 100 UFC/m³ a été détectée. A noter que pendant cette campagne de mesures, la concentration de microorganismes en amont du filtre G4 n'a pas été mesurée. Il est donc difficile de conclure qu'il s'agit d'un relargage.

Lors de la deuxième campagne de mesures (**R2**), les concentrations de microorganismes en aval du filtre G4 et F7 ont été inférieures à 100 UFC/m³, bien en dessous de la limite de quantification. Pendant cette campagne de relargage, la concentration de microorganismes en amont du filtre G4 a été mesurée comme étant de 280 ± 200 UFC/m³, sur gélose nutritive. Cette valeur correspond à une valeur moyenne sur 4 étalements sur boîtes de Petri. Les concentrations en aval du filtre G4 et F7 sont inférieures, de 57 et 19 UFC/m³ respectivement. Ainsi, pour la fraction échantillonnée en aval des filtres, les concentrations de microorganismes mesurées lors de reprises de la ventilation sont assez variables. Ceci dépend probablement, entre autres, des concentrations de l'air extérieur et/ou des conditions climatiques. Il serait intéressant de réaliser plus de mesures et d'utiliser une méthode complémentaire de quantification de microorganismes dans l'air.

En conclusion, bien que les concentrations de microorganismes observées pendant ces campagnes de prélèvements lors des reprises de la ventilation soient inférieures à la limite de quantification, la présence de microorganismes en aval des filtres est néanmoins détectée. Ces concentrations sont comparables à celles trouvées dans des environnements intérieurs, notamment les bureaux, comme présenté dans le Chapitre 1 (**Tableau 1-5**). Par exemple, la concentration de bactéries reportée dans la littérature peut varier entre 30 et 300 UFC/m³ dans des bureaux (Bonetta *et al.*, 2010 ; Ginestet *et al.*, 2003), pour des locaux équipés de CTA.

D'autre part, l'effet du filtre F7 est observé, car les résultats suggèrent que les microorganismes présents en aval du filtre G4 ont été en partie collectés par le filtre F7 en deuxième étage. La concentration de microorganismes observée en aval du filtre F7 est environ 10 fois plus faible que celle observée en aval du filtre G4.

Sur la **Figure 4-26a**, la concentration de microorganismes en amont du filtre **G4-CEX9** est présentée. Les concentrations varient entre 3 et 118 UFC/m³. Ces concentrations sont légèrement supérieures à celles de l'air soufflé vers les locaux (aval du filtre F7-CTA9) ce qui démontre que l'activité humaine dans les locaux génère des aérosols microbiens qui sont ensuite collectés sur le filtre d'extraction. Il est à noter que la concentration plus importante du mois de juillet, peut s'expliquer probablement par les conditions climatiques, car pendant ce mois, la valeur médiane de l'humidité relative était d'environ 60%. L'humidité relative relevée pendant le prélèvement par Biosampler est aussi présentée sur ce graphique. Sur la **Figure 4-26b**, les concentrations de microorganismes en aval du filtre **G4-CEX9** sont présentées. Ces concentrations sont inférieures à celles trouvées en amont du filtre, ce qui est un résultat attendu et qui permet d'apprécier l'effet du filtre sur la collecte d'aérosols microbiens.

A noter également qu'en amont du filtre **G4-CEX9**, il semblerait que les espèces fongiques ne soient pas présentes car les concentrations par rapport au milieu RBC sont généralement inférieures à la limite de détection. Ceci peut suggérer que l'activité humaine dans les locaux génère principalement des aérosols bactériens.

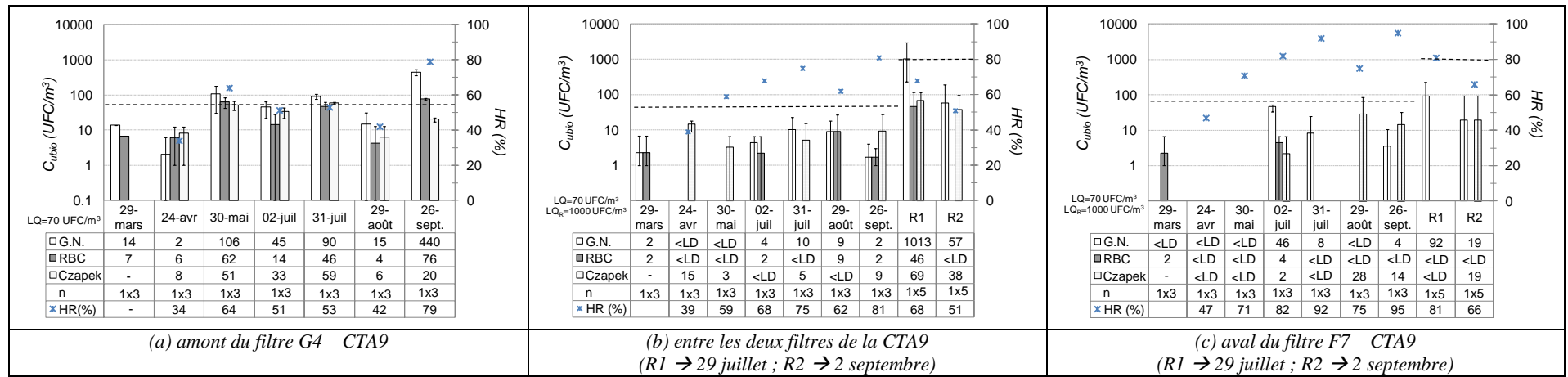


Figure 4-25. Concentration de microorganismes dans l'air dans la gaine de ventilation de la CTA9

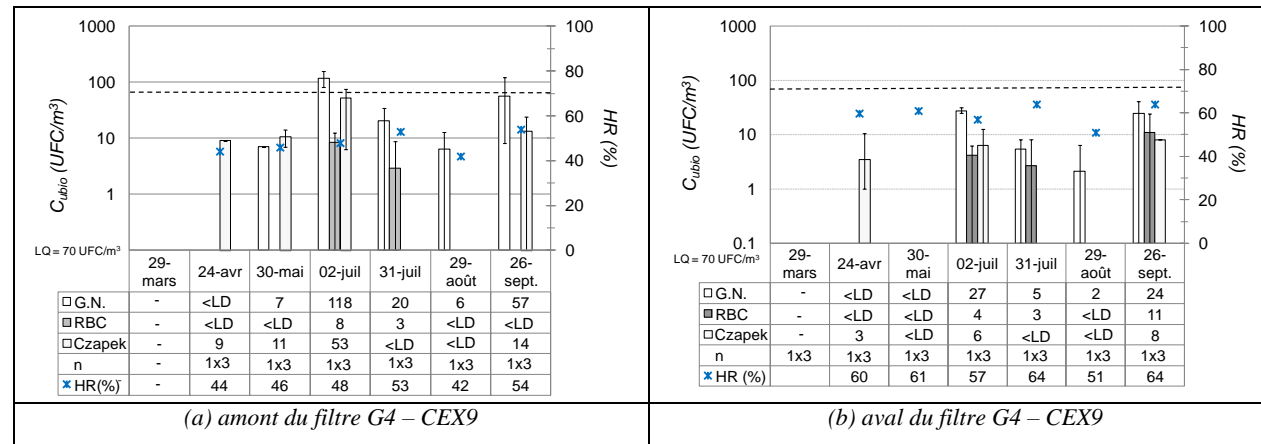


Figure 4-26. Concentration de microorganismes dans l'air dans la gaine de ventilation de la CEX9.

IV.6. Concentration des microorganismes sur les filtres

IV.6.1. Filtres soufflage

Les concentrations moyennes de microorganismes totaux cultivables sur les filtres G4 et F7 sont présentées sur la **Figure 4-27**. Ces concentrations correspondent à l'analyse microbiologique des coupons de filtres qui ont été récupérés une fois par mois. Les valeurs présentées correspondent à des concentrations moyennes sur 3 coupons analysés et 3 séries de dilution pour comptage UFC, représenté sur les graphiques par n égal à 3x3. Les barres d'incertitude correspondent aux valeurs maximales et minimales observées. La limite de quantification (**LQ**) a été fixée à 20 UFC/cm².

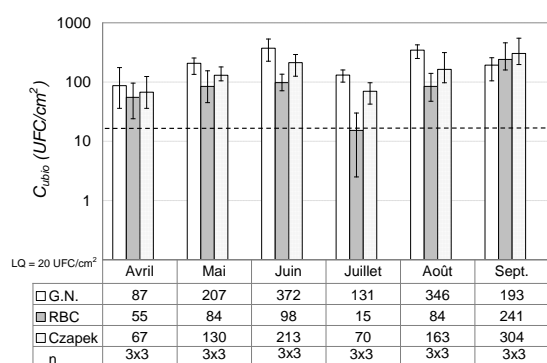
Pour le filtre **G4-CTA9**, des concentrations moyennes entre 15 et 372 UFC/cm² ont été trouvées pendant les 6 mois de suivi. Pendant les trois premiers mois de suivi, une augmentation de la concentration de microorganismes a été observée, quel que soit le milieu de culture utilisé. La concentration fluctue par la suite. Il est important de souligner qu'à partir de juillet, l'étape mensuelle de récupération des coupons a nécessité un démontage du filtre G4 car son colmatage rendait l'identification visuelle des coupons très difficile. En conséquence, le gâteau de particules a été perturbé ce qui pourrait expliquer la diminution de la concentration de microorganismes. Après 6 mois d'opération, les milieux RBC (spécifique pour les espèces fongiques) et Czapek présentent les concentrations les plus élevées de 241 et 304 UFC/cm² respectivement.

Pour le filtre **F7-CTA9**, les concentrations moyennes de microorganismes sur le filtre sont comprises entre 12 et 227 UFC/cm². Cette fourchette est légèrement inférieure à celle du filtre **G4-CTA9**. Pour rappel, les coupons étaient fixés en entrée de poche. Ce filtre n'a jamais été démonté pour récupérer les coupons car ils étaient fixés au cadre métallique, collés avec du scotch aluminium, ce qui facilitait leur identification. Pour ce filtre, pendant les deux premiers mois de fonctionnement, une légère augmentation de la concentration de microorganismes a été observée, pour les trois milieux de cultures étudiés. Pendant les mois de juin et juillet, une diminution a également été observée pour les trois milieux de culture. En août et en septembre, les concentrations augmentent à nouveau. Comme pour le filtre G4, en septembre,

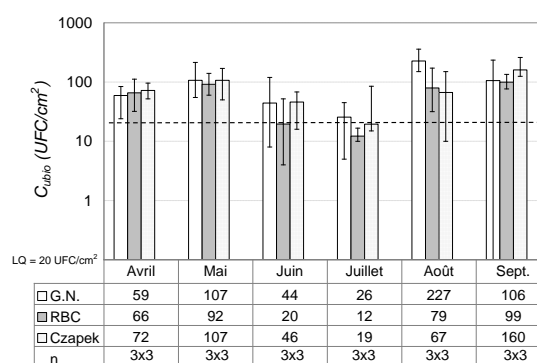
les milieux RBC et Czapek présentent les concentrations les plus élevées de microorganismes, de 99 et 160 UFC/cm².

Il est intéressant de remarquer que le comportement des microorganismes en filtration ne conduit pas à une augmentation progressive de la concentration microbienne sur le filtre au cours du colmatage comme c'est le cas pour les particules dans un processus de filtration classique. En effet, pour les particules, la concentration de particules déposées augmente au fur et à mesure du colmatage qui est proportionnel au temps de fonctionnement du filtre. De plus, de manière surprenante, pendant le mois de juillet, quand les conditions climatiques paraissent favorables pour les microorganismes (valeurs médianes de température et humidité relative les plus élevées obtenues), une baisse de la concentration est observée pour les filtres G4 et F7.

Cette observation est difficile à expliquer car la littérature révèle qu'une température comprise entre 22 et 32°C et une humidité relative entre 40 et 90% peuvent être considérées comme conditions optimales pour la croissance microbienne (Li *et al.* 2010). Néanmoins, d'autres auteurs n'ont pas trouvé une influence de l'humidité sur la croissance de *B. subtilis* ou d'*A. niger* étudiés en laboratoire pour des humidités comprises entre 20 et 98% (Maus *et al.* 2001). Ainsi, il est difficile de prédire une évolution des microorganismes sur des filtres car elle dépend de plusieurs facteurs tels que les conditions climatiques, mais aussi la source de nutriments qui est notamment offerte par le gâteau de particules, ou encore des conditions d'abri et de protection que les souches microbiennes peuvent trouver dans ce gâteau de particules.



(a) Filtre G4 – Premier étage



(a) Filtre F7 – Deuxième étage

Figure 4-27. Concentration de microorganismes totaux cultivables sur les filtres de la CTA9.

En termes de diversité microbienne, plus d'une trentaine d'espèces fongiques et bactériennes ont été observées (cf. **Figure 4-28**). L'identification des souches n'a pas été réalisée sur ce filtre.

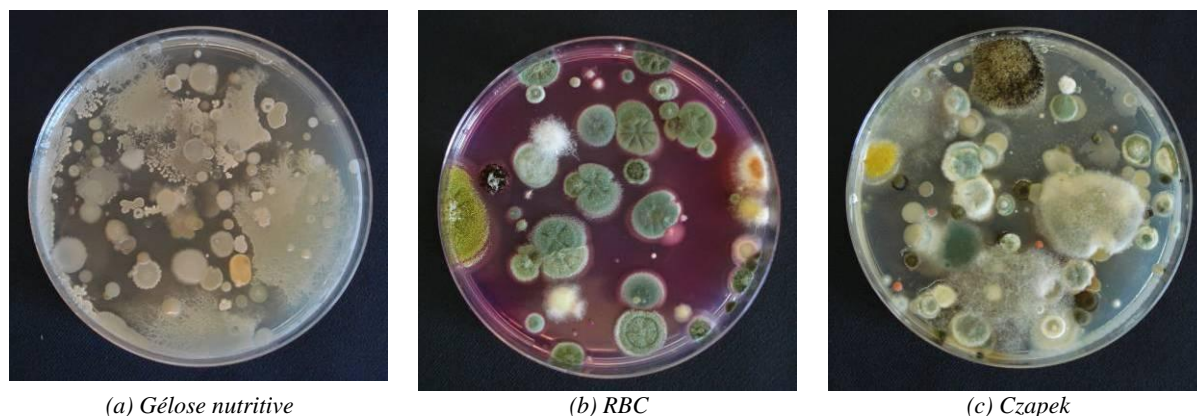


Figure 4-28. Microorganismes cultivables observés sur les différents milieux de culture extraits du filtre G4-CTA9 après 6 mois de fonctionnement.

IV.6.2. Filtre extraction

Le filtre **G4-CEX9** a été analysé en microbiologie, après 6 mois de fonctionnement. Le filtre colmaté a été récupéré et 9 échantillons ont été prélevés suivant le protocole présenté dans l'**Annexe 5**. Ces 9 échantillons ont subi le protocole d'extraction et un mélange composite des 9 échantillons a été analysé par comptage UFC. 5 séries de dilution ont été réalisées pour chaque milieu de culture. Les microorganismes observés sont présentés sur la **Figure 4-29**.

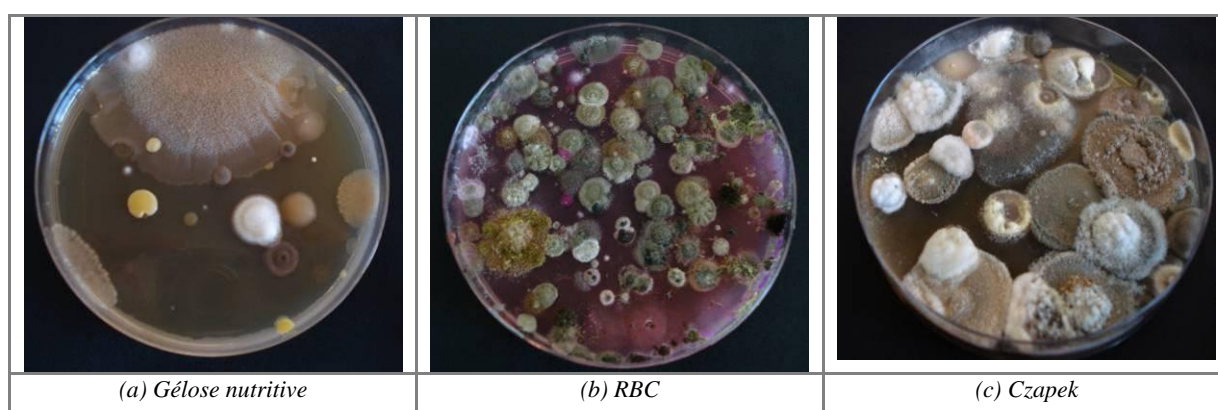


Figure 4-29. Microorganismes cultivables observés sur les différents milieux de culture extraits du filtre G4-CEX9 après 6 mois de fonctionnement.

La concentration de microorganismes cultivables trouvée est de 933 ± 320 sur milieu gélose nutritive, 1058 ± 280 sur milieu RBC et de 1220 ± 290 UFC/cm² sur milieu Czapek. Ces concentrations de microorganismes sont assez comparables à celles mesurées sur un filtre G4 de nature différente, après 1 an de fonctionnement, qui a été récupéré au moment de l'installation des filtres qui font l'objet de cette étude. Ce filtre G4 récupéré a présenté des concentrations d'environ 2400 UFC/cm² sur gélose nutritive, 1600 UFC/cm² sur milieu RBC et 1500 UFC/cm² sur milieu Czapek (**Annexe 5**).

Ces concentrations sont bien plus élevées que celles trouvées pour le filtre **G4-CTA9** qui traite l'air extérieur. Il est intéressant de remarquer que bien que le filtre **G4-CEX9** traite l'air extrait des locaux, qui est bien moins chargé en particules, il présente une concentration de microorganismes 10 fois plus importante que le filtre **G4-CTA9**. Cette observation est à mettre en relation avec le fait que les occupants de la pièce peuvent être générateurs d'aérosols microbiens qu'il est possible de retrouver sur le filtre.

D'après une analyse qualitative des souches observées (identification des colonies les plus représentatives par Microseq) sur boîtes de Petri par rapport à celles identifiées sur le filtre G4 d'extraction provenant de cette CTA et prélevé lors de la mise en place du filtre G4 pour cette étude, mais d'une nature différente (**Annexe 5**), les espèces microbiennes majoritaires retrouvées correspondent famille *Bacillus* et *Micrococcus* pour les bactéries et *Penicillium* et *Aspergillus* pour les fungi.

V. Conclusion du chapitre

Dans cette partie, deux CTA à pleine échelle ont été étudiées pendant 6 mois : une CTA contenant deux étages de filtration qui traite l'air extérieur pour alimenter un local de reprographie (**CTA9**) et une CTA d'extraction associée ayant un seul étage de filtration (**CEX9**). L'humidité relative, la température et la perte de charge des filtres ont été suivies en continu pendant les 6 mois d'opération. Les concentrations de particules et d'aérosols microbiens ont été mesurées une fois par mois. Un suivi mensuel de la concentration en microorganismes sur les filtres de la CTA de soufflage a été également réalisé.

De plus, une analyse des microorganismes collectés par le filtre de la CTA d'extraction a été réalisée après 6 mois de fonctionnement.

La concentration et la granulométrie des particules mesurées une fois par mois, en amont des filtres de la CTA de soufflage, révèle que l'aérosol urbain est principalement un aérosol submicronique, puisque 90% des particules sont inférieures à 0,5 μm . Les concentrations des particules sont le plus souvent faibles par rapport à la valeur moyenne journalière conseillée par l'OMS de 50 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ce qui permet de conclure que la zone d'étude correspond à un environnement peu pollué.

Après 6 mois de fonctionnement, la perte de charge des filtres évolue lentement. Les filtres **G4-CTA9** et **F7-CTA9** atteignent un ratio $\Delta P/\Delta P_0$ de 1,6 et 1,1 respectivement. Le filtre **G4-CEX9** atteint un ratio $\Delta P/\Delta P_0$ de 1,1. A noter que la faible évolution de la ΔP du filtre placé en deuxième étage était déjà observée dans les essais sur la mini CTA. Il est important de noter que l'évolution de la ΔP en fonction de la masse de particules collectées sur le filtre G4 est plus lente par rapport à celle observée dans les essais sur mini CTA. La vitesse de filtration se révèle comme un facteur important qui peut influencer le mécanisme de collecte par diffusion brownienne des particules et expliquer ce résultat. En effet, dans la CTA9 la vitesse de filtration étant 2 fois plus importante que dans la mini CTA, l'efficacité de collecte des particules d'environ 0,4 μm est plus faible. Ceci suggère une formation de gâteau de particules plus aéré, car formé par des particules de plus grande dimension, conduisant ainsi à une perte de charge plus faible. D'autres facteurs qui peuvent expliquer les différences d'évolution de ΔP sont l'HR pendant le colmatage, la nature des particules (notions d'hygroscopicité) et les arrêts de ventilation qui peuvent conduire à un réarrangement du gâteau de particules.

Concernant l'efficacité globale en nombre des filtres, il est observé que les filtres G4 présentent une efficacité inférieure à 20%. Le filtre F7 présente une efficacité moyenne entre 50 et 70% pendant les 6 mois de suivi. Pour les filtres G4, les courbes d'efficacité fractionnelle révèlent que la MPPS se situe dans la zone comprise entre 0,3 et 0,6 μm et pour le filtre F7 elle se situe autour de 0,3 μm . Pour les filtres G4, l'efficacité initiale à la MPPS est inférieure à 10%, ce qui est tout à fait comparable avec les essais sur mini CTA, notamment pour le filtre G4-T+1. Pour le filtre F7, l'efficacité initiale à la MPPS est d'environ 50%, ce

qui est plus faible par rapport aux essais mini CTA où ces filtres présentaient une efficacité initiale supérieure à 80%. La vitesse de filtration peut notamment expliquer ces résultats.

Concernant les concentrations d'aérosols microbiens dans l'air, les valeurs les plus importantes ont été observées en amont du filtre **G4-CTA9**, ce qui donne une idée de la qualité microbiologique de l'air extérieur. Des microorganismes ont été détectés en aval des filtres, lors d'une des campagnes de mesure pendant la reprise de la ventilation, après un week-end d'arrêt de la CTA9. Les concentrations observées ont été proches ou inférieures à la limite de quantification ($LQ_R = 1000 \text{ UFC/m}^3$), et elles restent du même ordre de grandeur par rapport aux concentrations reportées dans la littérature pour des environnements intérieurs équipés d'une CTA. De ce fait, l'efficacité des filtres vis-à-vis de microorganismes n'a pas pu être quantifiée. Ainsi, pour la fraction échantillonnée en aval des filtres, les concentrations de microorganismes mesurées lors de reprises de la ventilation sont assez variables. Ceci dépend probablement, entre autres, des concentrations de l'air extérieur et/ou des conditions climatiques. Il serait intéressant de réaliser plus de mesures et d'utiliser une méthode complémentaire de quantification de microorganismes dans l'air.

La concentration d'aérosols microbiens dans la **CEX9** en amont du filtre (correspondant à l'air intérieur extrait) est légèrement supérieure à celle de l'air traité par la **CTA9**. Ceci démontre l'effet de l'activité humaine comme source d'aérosols microbiens dans les locaux. Les espèces fongiques ne sont quasiment pas détectées. Cette observation suggère que l'activité humaine génère principalement des aérosols bactériens.

Sur les filtres, la concentration de microorganismes totaux cultivables a été suivie une fois par mois. L'évolution de la concentration n'augmente pas au fur et à mesure du colmatage des filtres de la **CTA9** comme présumé a priori. Il semble qu'un effet combiné de la température et de l'humidité puisse influencer sur le comportement des microorganismes en filtration. Les concentrations sont légèrement plus élevées pour le filtre G4 que pour le filtre F7. Après 6 mois de fonctionnement, sur le filtre **G4-CEX9** des concentrations de microorganismes 10 fois plus élevées que celles sur les filtres de la CTA9 ont été trouvées. Cette observation est intéressante car bien que ce filtre traite l'air extrait des locaux qui est peu pollué en raison de la faible concentration de particules, il présente des concentrations importantes de microorganismes.

Cette observation suggère que bien qu'un filtre soit visiblement peu colmaté, ceci ne signifie pas que la quantité de microorganismes collectés soit négligeable. Ainsi, une préconisation spéciale peut être faite pour le personnel technique qui réalise la maintenance des CTA et le changement des filtres. Il est important de respecter les consignes existantes concernant l'utilisation d'EPI (Equipement de Protection Individuelle) pertinent, par exemple, une tenue adéquate, de gants et le port d'un masque anti-poussière. Ainsi, une vigilance doit être portée sur le traitement, transport ou stockage de ces filtres une fois qu'ils sont retirés de la CTA et qu'ils sont considérés comme des déchets.

Conclusion générale

Ces travaux de thèse ont permis d'améliorer les connaissances sur les performances de filtration des CTA des réseaux de ventilation de bâtiments vis-à-vis des aérosols. En particulier, le comportement des microorganismes collectés sur des médias fibreux filtrants de géométries industrielles a été considéré. L'originalité de ces travaux de thèses réside, entre autres, dans le déploiement d'une méthodologie expérimentale à la fois à l'échelle du laboratoire et à pleine échelle. Deux objectifs ont été fixés :

- Etudier les performances de filtration vis-à-vis des particules et des aérosols microbiens, à différents degrés de colmatage,
- Evaluer l'influence des arrêts de ventilation sur le comportement de microorganismes sur les filtres et le relargage des particules et des aérosols microbiens.

Pour répondre à ces objectifs, dans un premier temps une revue bibliographique a été réalisée et présentée dans le premier chapitre de ce manuscrit. Une attention particulière a été portée sur les études de la littérature concernant la qualité de l'air extérieur urbain et dans les environnements intérieurs du secteur tertiaire, en termes de particules et d'aérosols microbiens. Une grande variabilité de nature des particules (concentration, granulométrie, composition chimique, etc.) ainsi que la présence de différentes souches microbiennes ont été mises en évidence. Ces informations ont permis de sélectionner les aérosols « modèles » qui ont été utilisés pour l'étude expérimentale à l'échelle du laboratoire. De même, dans la revue bibliographique, quelques techniques de génération, d'échantillonnage et de caractérisation des aérosols microbiens ont été exposées afin de constituer le support scientifique et technique pour mener à bien les parties expérimentales de ce projet. Enfin, des études de la littérature traitant de la présence de microorganismes sur les filtres des CTA ont été répertoriées et les paramètres les plus influents sur leur comportement ont été identifiés, par exemple, l'humidité relative de l'air à traiter et la nature des particules collectées.

Les matériels et méthodes employés dans les étapes expérimentales de ces travaux ont été exposés dans le deuxième chapitre de ce manuscrit. Une caractérisation des trois médias filtrants étudiés a été présentée, à savoir des filtres d'efficacité G4, F7 et F9 selon la norme EN779. Il s'agit de filtres constitués de fibres en coton et polyester pour le média G4, et en fibres de verre pour les médias F7 et F9. Le média G4 étudié a une géométrie de filtre plan plissé non compact, tandis que les médias F7 et F9, multicouches, présentent une géométrie de filtres à poches. Les particules utilisées pour le colmatage des filtres et les aérosols microbiens étudiés sont aussi présentés dans ce chapitre. Il s'agit des particules d'alumine qui

assurent une fraction minérale et des particules de riz micronisé qui apportent le champignon *Penicillium chrysogenum* et assurent une fraction organique agissant comme substrat pour les microorganismes. La fraction microbienne a été assurée par un consortium microbien composé d'endospores de *Bacillus subtilis* et de spores d'*Aspergillus niger*. Les formes sporulées ont été étudiées car elles représentent une forme de résistance ou de dissémination développée par les microorganismes et de ce fait elles se trouvent fréquemment dans l'air. Enfin, les protocoles expérimentaux ont été également décrits concernant la génération, l'échantillonnage et la caractérisation des aérosols.

Les résultats de la partie expérimentale de cette thèse à **l'échelle du laboratoire** sont présentés dans le troisième chapitre. Une première partie est consacrée à la conception et au développement d'un banc d'essais nommé « mini CTA » qui a répondu à un cahier des charges établi pour l'étude des performances de filtration lors du colmatage de filtres prototypes (géométrie industrielle à échelle miniaturisée). Cette mini CTA permet le colmatage de deux étages de filtration consécutifs. Elle est instrumentée afin de suivre la perte de charge des filtres tout au long du colmatage. De plus, l'évolution de l'efficacité de filtration vis-à-vis des particules et des aérosols microbiens est déterminée par comptage isocinétique en amont et en aval de chaque filtre. L'humidité relative et la température de l'air sont régulées dans le banc d'essais entre 60 - 90% et 20 - 25°C respectivement. Un débit nominal de 140 m³/h a été défini pour avoir des vitesses de filtration caractéristiques des filtres industriels comprises entre 0,1 et 0,8 m/s. Une validation expérimentale de l'aéraulique dans le banc d'essais a été réalisée afin de connaître les champs de vitesses en amont et en aval des filtres et valider l'homogénéité de l'écoulement. Une validation climatique a également été effectuée pour évaluer les performances des différents organes composant le banc d'essais pour la régulation et le contrôle de l'humidité et de la température, à savoir, un sècheur à effet Peltier, un humidificateur par injection d'eau goutte à goutte, les résistances chauffantes et un échangeur de chaleur qui permet de refroidir l'air.

Deux configurations de filtres ont été testées sur ce banc d'essais. La configuration 1 correspondait à un filtre plan plissé G4 en premier étage suivi d'un filtre à poches F7 en deuxième étage. La configuration 2 correspondait à deux filtres à poches : un filtre F7 en premier étage et un filtre F9 en deuxième étage. Ces configurations ont été étudiées en raison de leur forte occurrence dans les CTA qui desservent des locaux du secteur tertiaire et des préconisations de la norme EN13779. Ces filtres ont été colmatés séquentiellement avec des

particules d'alumine puis de riz micronisé. Enfin, les filtres pré colmatés ont été contaminés par le consortium microbien. L'efficacité de filtration et les pertes de charge de ces filtres ont été mesurés au cours de leur colmatage et pour les différentes particules générées (alumine, riz micronisé et microorganismes). Par la suite, ces filtres ont subi des périodes de marche/arrêt de la ventilation de durées variables. Le relargage de particules et de microorganismes a été étudié lors des reprises de la ventilation. La concentration de microorganismes sur les filtres a été déterminée expérimentalement en fin d'étude afin d'évaluer le développement microbien.

Le suivi des performances des filtres au cours du colmatage suggèrent que l'évolution de la perte de charge est plus importante pour les filtres placés en premier étage de filtration puisqu'ils ont une concentration de particules plus importante à traiter. En conséquence, ils présentent un colmatage plus important que les filtres placés en deuxième étage. Lors de la génération du riz micronisé sur un filtre pré colmaté avec des particules d'alumine, il a été observé que la perte de charge augmente plus rapidement que lors du colmatage avec les particules d'alumine, notamment pour les filtres placés en premier étage. Ceci peut s'expliquer par l'évolution soudaine de l'efficacité globale des filtres. En effet, l'efficacité vis-à-vis de la fraction submicronique des particules de riz micronisé est significativement plus importante que l'efficacité vis-à-vis des particules d'alumine de mêmes tailles. Ce changement de tendance de l'évolution de la perte de charge et de l'efficacité peut s'expliquer probablement par la nature des particules de riz qui permet une meilleure collecte sur les fibres et le gâteau formé sur le filtre.

Pendant la contamination par voie liquide des filtres par les aérosols microbiens, conduisant à une humidité relative de l'air entre 80-90%, une diminution de la perte de charge des filtres a été observée. Le gâteau de particules, notamment les particules de riz micronisé, ainsi que le média fibreux ont une capacité de rétention d'eau, ce qui entraîne probablement un réarrangement du gâteau de particules et éventuellement une augmentation de sa porosité, conduisant à une diminution de la perte de charge. Il serait intéressant de confirmer ces hypothèses.

Les efficacités de collecte vis-à-vis des aérosols microbiens, estimées à partir de l'échantillonnage par Biosampler et comptage de colonies UFC, sont comparables à celles estimées à partir du comptage de particules à l'aide d'un compteur optique. Ce résultat ne

peut être étendu à d'autres formes de microorganismes que les spores, qui sont particulièrement résistantes à des conditions de stress et à une possible mortalité ou perte de cultivabilité lors de l'impaction sur les fibres collectrices des filtres. Pendant les épisodes de reprise de la ventilation, le ventilateur a été démarré graduellement. Aucun relargage de microorganismes n'a été détecté pour la fraction échantillonnée en aval des filtres. En revanche, pour la configuration 1, des particules ont été observées en aval du filtre F7 situé en deuxième étage, lors de 4 reprises sur 5 de la ventilation dans les conditions étudiées. Il a été observé qu'un dépassement soudain de consigne du débit d'air lors du démarrage peut conduire à un relargage de particules en aval des filtres.

Les résultats concernant la concentration de microorganismes sur les filtres suggèrent que les endospores de *B. subtilis* survivent sur les filtres pré colmatés avec des particules d'alumine et de riz micronisé sur tous les filtres étudiés, quelle que soit la période étudiée (10 jours ou 6 semaines). Cette survie de *B. subtilis* semble indépendante de l'humidité relative (60 ou 90%) dans la mini CTA et du ratio de particules Al_2O_3 /Riz généré. Il est néanmoins important de remarquer que la concentration de *B. subtilis* générée était élevée par rapport à celle d'*A. niger* et de *P. chrysogenum*, ce qui augmente les probabilités de détection de survie sur les filtres. Le champignon *P. chrysogenum* semble se développer sur tous les filtres étudiés à condition qu'une quantité minimale de riz soit déposée sur le filtre. *A. niger* ne se développe pas sur les filtres, probablement en raison d'un phénomène de compétition entre les souches. Les arrêts de ventilation ne semblent pas avoir d'influence sur la survie des microorganismes.

Le quatrième chapitre de ce manuscrit présente le suivi, pendant 6 mois, de deux CTA à pleine échelle de bâtiment tertiaires. Une CTA ayant la même configuration 1 que celle étudiée au laboratoire qui souffle l'air extérieur vers les locaux et une autre qui extrait l'air intérieur pour le rejeter vers l'extérieur. Un suivi de la perte de charge des filtres, de l'humidité relative et de la température de l'air a été réalisé en continu. Des mesures de quantification de la concentration de particules et d'aérosols microbiens en amont et en aval de chaque filtre ont été réalisées une fois par mois. Une méthodologie originale de suivi mensuel de la concentration de microorganismes collectés sur les filtres a été mise en place.

La distribution granulométrique en nombre des particules en amont des filtres de la CTA de soufflage révèle que l'aérosol urbain est principalement un aérosol submicronique, puisque 90% des particules est inférieur à $0,5\ \mu\text{m}$. Après 6 mois de fonctionnement, la perte de charge du filtre placé en deuxième étage évolue peu en raison de la faible concentration de particules

à traiter par rapport au premier étage de filtration. Ce résultat est cohérent avec l'évolution des pertes de charge observées sur la mini CTA, en termes des particules, ce qui conforte la bonne représentativité de la mini CTA. Les valeurs d'efficacité globale et fractionnelle des filtres G4 sont comparables à celles des filtres prototypes étudiés à l'échelle du laboratoire. Néanmoins, les valeurs d'efficacité globale et fractionnelle du filtre F7 de la CTA à pleine échelle sont plus faibles par rapport à celles des filtres prototypes, et plus faible par rapport aux données du fabricant. La différence de vitesse de filtration entre les deux échelles pourrait expliquer en partie ce résultat. Pendant les 6 mois de suivi, il n'a pas été observé d'évolution significative de l'efficacité. La concentration d'aérosols microbiens dans la CTA d'extraction en amont du filtre (correspondant à l'air intérieur extrait) est légèrement supérieure à celle de l'air traité par la CTA de soufflage (correspondant à l'air soufflé vers les locaux). Ceci indique un effet de l'activité humaine comme source d'aérosols microbiens dans les locaux. Les espèces fongiques ne sont quasiment pas détectées. Cette observation suggère que l'activité humaine génère principalement des aérosols de type bactérien. Des microorganismes ont été détectés en aval des filtres à l'occasion d'une des deux reprises de la ventilation étudiées, à des concentrations proches ou inférieures à la limite de quantification (1000 UFC/m³). Ces concentrations sont du même ordre de grandeur par rapport aux concentrations reportées dans la littérature pour des environnements intérieurs équipés d'une CTA. De plus, ces concentrations sont en conformité avec des préconisations réalisées par les organismes ACGIH²² et NIOSH²³ qui suggèrent de ne pas dépasser une concentration de 1000 UFC/m³ dans l'air intérieur. Les concentrations de microorganismes mesurées en aval des filtres lors de reprises de la ventilation sont assez variables et dépendent probablement, entre autres, des concentrations de l'air extérieur et/ou des conditions climatiques.

Une méthodologie d'échantillonnage du filtre, à l'aide de coupons mis en place sur sa surface, a permis d'étudier les cinétiques de croissance des microorganismes. La concentration de microorganismes collectés sur les filtres de la CTA de soufflage n'augmente pas au fur et à mesure du colmatage des filtres. Les concentrations en microorganismes sont plus élevées pour le filtre G4 que pour le filtre F7 et elles correspondent en moyenne à des concentrations par surface de filtres plus faibles par rapport à celles en fin d'essai des filtres colmatés dans la mini CTA. Après 6 mois de fonctionnement, le filtre G4 de la CTA d'extraction a présenté une concentration de microorganismes 10 fois plus élevées que celle du filtre G4 de la CTA

²² ACGIH : American Conference of Governmental Industrial Hygienists

²³ NIOSH : National Institute of Occupational Safety and Health

de soufflage. Cette observation est intéressante car bien que ce filtre traite l'air extrait des locaux qui est peu pollué en raison de la faible concentration de particules, il présente des concentrations plus importantes de microorganismes. Cette observation suggère que bien qu'un filtre soit visiblement peu colmaté en termes de perte de charge, ceci ne signifie pas nécessairement que la quantité de microorganismes collectés soit négligeable.

Les résultats obtenus ont permis de mieux caractériser le comportement des particules microbiennes capturées par les étages de filtration des CTA de bâtiment et ainsi d'identifier des conditions de gestion des CTA favorisant la maîtrise du comportement des microorganismes.

De ces travaux de thèse, de nombreuses perspectives scientifiques se dégagent. Ainsi, il serait intéressant de :

- Etudier plus en détails l'influence de la teneur en eau des médias filtrants et du gâteau de particules sur le comportement des microorganismes sur les filtres,
- Etudier d'autres combinaisons et géométries de filtres utilisées dans les CTA, par exemple les filtres dièdres à petits plis,
- Evaluer l'influence de la vitesse de filtration sur les différents mécanismes de collecte sur les fibres des filtres et sur les performances des filtres,
- Etudier l'influence du mode de démarrage du ventilateur sur la qualité de l'air traité,
- Implémenter une caractérisation microbiologique plus complète des aérosols microbiens et des microorganismes collectés sur les filtres. En particulier, des techniques de biologie moléculaire ou de méthodes analytiques pour la quantification des marqueurs, comme les endotoxines ou les COV produits par les microorganismes, par chromatographie gazeuse ou par spectrométrie de masses pourraient être étudiées,
- Réaliser un suivi des CTA à pleine échelle pendant une durée plus importante pour étudier le relargage et la concentration microbienne sur les filtres en fonction des différents degrés de colmatage sur toute la durée de vie des filtres sur site.
- Réaliser une caractérisation chimique de l'aérosol urbain pour mieux comprendre l'influence de l'humidité de l'air sur le gâteau de particules et regarder comment ceci peut altérer les performances des filtres.

Références bibliographiques

- ACGIH. (1999). *Bioaerosols. Assessment and control*. USA: ACGIH American Conference of Governmental Industrial Hygienists.
- ADEME. (2011a). Les enjeux de qualité de l'air. *ADEME & VOUS*, (44), 8–10.
- ADEME. (2011b). *Ventilation. Principes généraux*.
- Agranovski, I. (2010). *Aerosols - Science and Technology*. Germany: Wiley-VCH.
- Agranovski, I., Agranovski, V., Grishpun, S., Reponen, T., & Willeke, K. (2002). Collection of airborne microorganisms into liquid by bubbling through porous medium. *Aerosol Science and Technology*, 36, 502–509.
- Agranovski, I. E., Agranovski, V., Reponen, T., Willeke, K., & Grinshpun, S. A. (2002). Development and evaluation of a new personal sampler for culturable airborne microorganisms. *Atmospheric Environment*, 36(5), 889–898.
- Ahearn, D. G., Price, D. L., Simmons, R., Noble-Wang, J., & Crow, S. A. (2004). Indoor Moulds and Their Associations with Air Distribution Systems. In C. S. David (Ed.), *Advances in Applied Microbiology* (Vols. 1-Book, 1-Section, Vol. Volume 55, pp. 113–138). Academic Press.
- Amato, Pierre. (2006). *Les communautés microbiennes de l'eau des nuages : implication dans la chimie atmosphérique*. Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand, France.
- Amato, Pierre, Ménager, Matthieu, Sancelme, Martine, Laj, Paolo, Mailhot, Gilles, & Delort, Anne-Marie. (2005). Microbial population in cloud water at the Puy de Dôme: Implications for the chemistry of clouds. *Atmospheric Environment*, 39(22), 4143 – 4153.
- Andrès, Y., Dumont, E., & Gerente, C. (2009). Characterization techniques of packing material colonization in gas biofiltration processes. *Canadian Journal of Civil Engineering*, 36, 1895–1902.
- Araujo, R., Cabral, J. P., & Rodrigues, A. G. (2008). Air filtration systems and restrictive access conditions improve indoor air quality in clinical units: Penicillium as a general indicator of hospital indoor fungal levels. *AJIC*, 36(2), 129–134.
- Augustin, J. C. (2005). *Modélisation de la croissance microbienne et gestion de la sécurité sanitaire des aliments*. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort.
- Baiker, A., & Reithaar, A. (1982). Contact-angle of mercury against catalyst materials for use in intrusion porosimetry. *Industrial & Engineering Chemistry Product Research and Development*, 21(4), 590–591.
- Bailly, A., Clerc-Renaud, M., Rutman, E., & Ternant, C. (2001). *Traitement de l'air et climatisation*. Techniques de l'Ingénieur.
- Bauer, H., Schueller, E., Weinke, G., Berger, A., Hitzengerger, R., Marr, I. L., & Puxbaum, H. (2008). Significant contributions of fungal spores to the organic carbon and to the aerosol mass balance of the urban atmospheric aerosol. *Atmospheric Environment*, 42(22), 5542–5549.
- Bémer, D., Régnier, R., Callé, S., Thomas, D., Simon, X., & Appert-Collin, J. C. (2006). Filtration des aérosols - Performances des médias fibreux. *INRS - Hygiène et sécurité au travail - Cahiers de notes documentaires*. Publication ND 2241-202-06, www.inrs.fr – www.hst.fr.
- Bemstein, J. A., Levin, L., & Crandall, M. S. (2005). A pilot study to investigate the effects of combined dehumidification and HEPA filtration on dew point and airborne mold spore counts in day care centers. *Indoor Air*, 15(6), 402–407.
- Bénesse, M., Coq, L. Le, & Sollic, C. (2006). Collection efficiency of a woven filter made of multifiber yarn: Experimental characterization during loading and clean filter modeling based on a two-tier single fiber approach. *Journal of Aerosol Science*, 37(8), 974–989.
- Bonetta, Sa, Bonetta, Si, Mosso, S., Sampò, S., & Carraro, E. (2010). Assessment of microbiological indoor air quality in an Italian office building equipped with an HVAC system. *Environ Monit Assess*, 161, 473–483.
- Bonnevie-Perrier, J. C. (2008). *Étude du comportement des aérosols microbiens dans les filtres des réseaux de ventilation du bâtiment*. Ecole des Mines de Nantes, Nantes, France.
- Boulos, L., Prévost, M., Barbeau, B., Coallier, J., & Desjardins, R. (1999). LIVE/DEAD BacLight: application of a new rapid staining method for direct enumeration of viable and total bacteria in drinking water. *Journal of Microbiological Methods*, 37, 77–86.
- Buchanan, R. E. (1918). Life Phases in a Bacterial Culture. *The Journal of Infectious Diseases*, 23(2), 109–125.
- Burge, H. A. (1995). *Bioaerosols investigations*. Boca Raton, FL, USA.: Harriet CRC Press Inc.

- Burrows, S. M., Elbert, W., Lawrence, M. G., & Pöschl, U. (2009). Bacteria in the global atmosphere – Part 1: Review and synthesis of literature data for different ecosystems. *Atmospheric Chemistry and Physics*, pp. 9263–9280.
- Byung Uk, L., Kim, Y. J., Lee, C. H., Yun, S. H., Bae, G. N., & Ji, J. H. (2008). Development of a Fungal Spore Aerosol Generator: Test with *Cladosporium cladosporioides* and *Penicillium citrinum*. *J.Microbiol.Biotechnol.*, 18(4), 795–798.
- Calvo, A. I., Alves, C., Castro, A., Pont, V., Vicente, A. M., & Fraile, R. (2013). Research on aerosol sources and chemical composition: Past, current and emerging issues. *Atmospheric Research*, 120–121(0), 1 – 28.
- Carlsson, T., & Johnsson, M. (2012). PM removal for particulate air filters for general ventilation (Vol. Session G13). Presented at the 11th World filtration Congress.
- Carman, P. C. (1961). L'écoulement des gaz à travers les milieux poreux . Paris, France: Presses universitaires de France.
- Casareto, B. E., Suzuki, Y., Okada, K., & Morita, M. (1996). Biological micro-particles in rain water. *Geophys.Res.Lett.*, 23(2), 173–176.
- CGDD. (2013). La qualité de l'air en 2011 : la France dans l'Union Européenne. Chiffres & statistiques. Commissariat général au développement durable.
- Chaucherie, X., Gouriou, F., Le Bihan, O., Gautier, F., & Fraboulet, I. (2007). *Détermination de la granulométrie des aérosols dans les émissions canalisées: PM10, PM2.5, PM1 et PM0.1*. France: ADEME.
- Chow, P. K., Chan, W. Y., & Vrijmoed, L. L. P. (2005). An investigation on the occurrence of fungi and bacteria in the MVAC system in an office premise (Vol. 1PT2, pp. 1096–1100). Presented at the Proceedings of the 10th International Conference on Indoor Air Quality and Climate 1-5.
- Cohen, A. J., Anderson, H. R., Ostro, Bart, Pandey, K. D., Krzyzanowski, M., Künzli, N., Gutschmidt, K., Pope III, C. A., ... Smith, K. R. (2004). *Urban air pollution*.
- Comiti, J., Sabiri, N. E., & Montillet, A. (2000). Experimental characterization of flow regimes in various porous media – III: limit of Darcy's or creeping flow regime for Newtonian purely viscous non Newtonian fluids. *Chemical Engineering Science*, pp. 3057 – 3061.
- Coz, E., Artíñano, B., Clark, L. M., Hernandez, M., Robinson, A. L., Casuccio, G. S., Lersch, T. L., & Pandis, S. N. (2010). Characterization of fine primary biogenic organic aerosol in an urban area in the northeastern United States. *Atmospheric Environment*, 44(32), 3952–3962.
- CSTB. (2006). *Synthèse bibliographique sur les méthodes de mesure des aérosols de Légionelles*. CSTB: Centre Scientifique et Technique du Bâtiment.
- Davies, C. N. (1973). Air filtration. (Academic Press Inc.).
- Deacon, J. W. (2006). Fungal biology (4ème ed.). Singapore: Blackwell Publishing Ltd.
- Del Fabro, L. (2001). Modelisation des écoulements d'air et du colmatage des filtres plissés par des aérosols solides. Université Paris XII.
- Delort, Anne-Marie, Vaitilingom, Mickael, Amato, Pierre, Sancelme, Martine, Parazols, Marius, Mailhot, Gilles, Laj, Paolo, & Deguillaume, Laurent. (2010). A short overview of the microbial population in clouds: Potential roles in atmospheric chemistry and nucleation processes. *Atmospheric Research*, 98(2–4), 249 – 260.
- Dickenson, TC. (1997). Filters and filtration handbook (Vol. 4ème). Oxford: Elsevier Science Ltd.
- Docampo, S., Trigo, M. M., Recio, M., Melgar, M., García-Sánchez, J., & Cabezudo, B. (2011). Fungal spore content of the atmosphere of the Cave of Nerja (southern Spain): Diversity and origin. *Science of The Total Environment*, 409(4), 835–843.
- Douwes, J., Doekes, G., Montijn, R., Heederik, D., & Brunekreef, B. (1996). Measurement of glucans $\beta(1\text{--}3)$ -in occupational and home environments with an inhibition enzyme immunoassay. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(9), 3176–3182.
- Dullien, F. A. L. (1989). Industrial gas cleaning. Londres, Royaume-Uni.: Academic Press.
- Dungan, R. S., & Leytem, A. B. (2009). Qualitative and quantitative methodologies for determination of airborne microorganisms at concentrated animal-feeding operations. *World Journal of Microbiol Biotechnology*, 25, 1505–1518.
- Duquenne, P., & Greff-Mirguet, G. (2005). *L'échantillonnage et l'analyse des aérosols microbiens*. INRS.
- Ebert, W., Taylor, P. E., Andreae, M. O., & Pöschl, U. (2007). Contribution of fungi to primary biogenic aerosols in the atmosphere: wet and dry discharged spores, carbohydrates, and inorganic ions. *Atmos. Chem. Phys.*, 7, 4569–4588.

- Eduard, W., & Heederik, D. (1998). Methods for quantitative assessment of airborne levels of noninfectious microorganisms in highly contaminated work environments. *American Industrial Hygiene Association Journal*, 59, 113–127.
- European Commission. (2013). Qualité de l'air: l'UE propose une nouvelle stratégie. Résumé pour les citoyens.
- Farnsworth, J. E., Goyal, S. M., Won Kim, S., Kuehn, T. H., Raynor, P. C., Ramakrishnan, M. A., Anantharaman, S., & Tang, W. (2006). Development of a method for bacteria and virus recovery from heating, ventilation and air conditioning (HVAC) filters. *Journal of Environmental Monitoring*, 8, 1006–1013.
- Faure, M. (2010). Purification de l'air ambiant par l'action bactericide de la photocatalyse. Institut National Polytechnique de Lorraine.
- Fischer, G., & Dott, W. (2003). Relevance of airborne fungi and their secondary metabolites for environmental, occupational and indoor hygiene. *Archives of Microbiology*, 179(2), 75–82.
- Forthomme, A. (2012). Caractérisation du comportement des aérosols microbiens dans les réseaux de ventilation d'espaces occupés. Ecole des Mines de Nantes.
- Forthomme, Audrey, Joubert, Aurélie, Andrès, Yves, Simon, Xavier, Duquenne, Philippe, Bemer, Denis, & Coq, Laurence Le. (2014). Microbial aerosol filtration: Growth and release of a bacteria–fungi consortium collected by fibrous filters in different operating conditions. *Journal of Aerosol Science*, 72(0), 32–46.
- Franzetti, A., Gandolfi, I., & Gaspari, E. (2011). Seasonal variability of bacteria in fine and coarse urban air particulate matter. *Applied microbiologie and biotechnologie*, 90(2), 745–753.
- Gilbert, Y., & Duchaine, C. (2009). Bioaerosols in industrial environments: a review. *Canadian Journal of Civil Engineering*, 36(12), 1873–1886.
- Gillespie, V. L., Clark, C. S., Bjornson, H. S., Samuels, S. J., & Holland, J. W. (1981). A comparison of two-stage and six-stage Andersen impactors for viable aerosols. *American Industrial Hygiene Association Journal*, 42(12), 858–864.
- Ginestet, A., Ribot, B., Henninot, M., & Pugnet, D. (2003). Indoor air quality in two different office buildings. Part 2: Indoor and outdoor airborne particulate levels and air filtration (Vol. Singapore, pp. 104–110). Presented at the Healthy Buildings 2003, 7th International Conference.
- Görner, P., Fabriès, J. F., Duquenne, P., Witschger, O., & Wrobel, R. (2006). Bioaerosol sampling by a personal rotating cup sampler CIP 10-M. *Journal of Environmental Monitoring*, 8, 43–48.
- Gougeon, R. (1994). Filtration des aérosols liquides par les filtres à fibres en régimes d'interception et d'inertie. Université Paris XII.
- Goyal, Sagar M., Anantharaman, Senthilvelan, Ramakrishnan, M. A., Sajja, Suchitra, Kim, Seung Won, Stanley, Nicholas J., Farnsworth, James E., Kuehn, Thomas H., & Raynor, Peter C. (2011). Detection of viruses in used ventilation filters from two large public buildings. *American Journal of Infection Control*, 39(7), e30–e38.
- Goyer, N., Lavoie, J., Lazure, L., & Marchand, G. (2001). *Les bioaérosols en milieu de travail: guide d'évaluation, de contrôle et de prévention*. Montreal, Québec: IRSST (L'Institut de Recherche en Santé et en Sécurité du Travail).
- Graham, B., Guyon, P., Maenhaut, W., Taylor, P. E., Ebert, M., Matthias-Masser, S., Mayol-Bracero, O., Godoi, R., ... Andreae, M. (2003). Composition and diurnal variability of the natural Amazonian aerosol. *Journal of Geophysical Research*, 108.
- Gralton, J., Tovey, E., McLaws, M. L., & Rawlinson, W. D. (2011). The role of particle size in aerosolised pathogen transmission: A review. *Journal of Infection*, 65, 1–13.
- Griffiths, W. D., & Birch, D. J. (1994). The effects of aerosolisation parameters on the viability of bioaerosols. *Journal of Aerosol Science*, 25(Supplement 1), 573–574.
- Griffiths, W. D., & DeCosmo, G. A. L. (1994). The assessment of bioaerosols: A critical review. *Journal of Aerosol Science*, 25(8), 1425–1458.
- Gruber, S., & Jaenicke, R. (1999). Biological particles in a North Greenland ice core. *Journal of Aerosol Science*, 30, Supplement 1(0), S813–S814.
- Gustavsson, J., Ginestet, A., Tronville, P., & Hyttinen, M. (2010). Air filtration in HVAC systems. Brussels: REHVA. Federation of European Heating, Ventilation and Air-conditioning Associations.
- Haas, D., Galler, H., Luxner, J., Zarfel, G., Buzina, W., Friedl, H., Marth, E., Habib, J., & Reinthaler, F. F. (2013). The concentrations of culturable microorganisms in relation to particulate matter in urban air. *Atmospheric Environment*, 65(0), 215–222.

- Harrison, R. M. (2004). Key pollutants. Airborne particles. *Science of The Total Environment*, 334(335), 3–8.
- Hézar, N., Simon, G., Droullé, A., & Nguyen, P. (2007). La cytométrie en flux dans un laboratoire d'hémostase. *Revue francophone des laboratoires*, 393, 63–71.
- Hoose, C., Kristjánsson, J. E., & Burrows, S. M. (2010). How important is biological ice nucleation in clouds on a global scale? *Environmental Research Letters*, 5(2), 024009.
- Huttunen, K., Rintala, H., Hirvonen, M. R., Vepsäläinen, A., Hyvärinen, A., Meklin, T., Toivola, M., & Nevalainen, A. (2008). Indoor air particles and bioaerosols before and after renovation of moisture-damaged buildings: The effect on biological activity and microbial flora. *Environmental research*, 107(3), 291–298.
- Idel'cik, I. E. (1986). Mémento des pertes de charge (Vol. Eyrolles).
- Jaenicke, R. (2005). Abundance of Cellular Material and Proteins in the Atmosphere. *Science*, 308, 73.
- Jankowska, E., Reponen, T., Willeke, K., Grinshpun, S. A., & Choi, K. J. (2000). Collection of fungal spores on air filters and spore reentrainment from filters into air. *Journal of Aerosol Science*, 31(8), 969–978.
- Jones, A. M., & Harrison, R. M. (2004). The effects of meteorological factors on atmospheric bioaerosol concentrations—a review. *Science of The Total Environment*, 326(1-3), 151–180.
- Joubert, A. (2009). Performances des filtres plissés à Très Haute Efficacité en fonction de l'humidité relative de l'air. Institut National Polytechnique de Lorraine.
- Kalyoncu, Fatih. (2010). Relationship between airborne fungal allergens and meteorological factors in Manisa City, Turkey. *Environmental Monitoring and Assessment*, 165(1-4), 553–558.
- Karbowska-Berent, Joanna, Górny, Rafał L., Strzelczyk, Alicja B., & Wlazło, Agnieszka. (2011). Airborne and dust borne microorganisms in selected Polish libraries and archives. *Building and Environment*, 46(10), 1872 – 1879.
- Kelkar, U., Bal, A. M., & Kulkarni, S. (2005). Fungal contamination of air conditioning units in operating theatres in India. *Journal of Hospital Infection*, 60(1), 81 – 84.
- Kemp, S. J., Kuehn, T. H., & Pui, D. (1995). Growth of microorganisms on HVAC filters under controlled temperature and humidity conditions, *ASHRAE Transactions: Research*.
- Kim, K. Y., & Kim, C. N. (2007). Airborne microbiological characteristics in public buildings of Korea. *Building and Environment*, 42, 2188–2196.
- Kim, K. Y., Kim, H. T., Kim, D., Nakajima, J., & Higuchi, T. (2009). Distribution characteristics of airborne bacteria and fungi in the feedstuff-manufacturing factories. *Journal of Hazardous Materials*, 169, 1054–1060.
- Kuehn, T. H., Pui, D. Y. H., Berg, C. D., & Vesley, D. (1991). Matching filtration to health requirements. *ASHRAE Transactions*, 2, 164–169.
- Kuwabara, B. S. (1959). The forces experienced by randomly distributed parallel circular cylinders or spheres in a viscous flow at small Reynolds numbers. *Journal of the Physical Society of Japan*, pp. 527–532.
- Laflamme, A. M., & Miller, J. David. (1992). Collection of spores of various fungi by a Reuter centrifugal sampler. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 29(2), 101–110.
- Lan, L., Wargocki, P., Wyon, D. P., & Lian, Z. (2011). Effects of thermal discomfort in an office on perceived air quality SBS symptoms, physiological responses, and human performance. *Indoor Air*, 21(5), 376–390.
- Lavoie, J., & Lazure, L. (1994). *Guide de prévention contre la prolifération microbienne dans les systèmes de ventilation*. Montréal: IRSST.
- Law, A. K. Y., Chau, C. K., & Chan, G. Y. S. (2001). Characteristics of bioaerosol profile in office buildings in Hong Kong. *Building and Environment*, 36, 527–541.
- Le Coq, L. (2006). Élimination des particules. *Techniques de l'Ingénieur*, (G1710).
- Le Coq, L. (2008). Influence on permeability of the structural parameters of heterogeneous porous media. *Environmental Technology*, 29(2), 141–149.
- Lee, J. H., Hwang, G. B., Jung, J. H., Lee, D. H., & Lee, B. U. (2010). Generation characteristics of fungal spore and fragment bioaerosols by airflow control over fungal cultures. *Journal of Aerosol Science*, 41(3), 319–325.
- Lee, K. S., Bartlett, K. H., Brauer, M., Stephens, G. M., Black, W. A., & Teschke, K. (2004). A field comparison of four samplers for enumerating fungal aerosols I. Sampling characteristics. *Indoor Air*, 14(5), 360–366.

- Lee, K. W., & Liu, B. Y. H. (1982). Theoretical study of aerosol filtration by fibrous filter. *Aerosol Science and Technology*, pp. 147–161.
- Li, A., Liu, Z., Zhu, X., Liu, Y., & Wang, Q. (2010). The effect of air-conditioning parameters and deposition dust on microbial growth in supply air ducts. *Energy and Buildings*, 42(4), 449–454.
- Li, Angui, Liu, Zhijian, Liu, Ying, Xu, Xiaoxia, & Pu, Yueli. (2012). Experimental study on microorganism ecological distribution and contamination mechanism in supply air ducts. *Energy and Buildings*, 47(0), 497 – 505.
- Li, Peng-hui, Han, Bin, Huo, Jing, Lu, Bing, Ding, Xiao, Chen, Li, Kong, Shao-fei, Bai, Zhi-peng, & Wang, Bin. (2012). Characterization, meteorological influences and source identification of carbonaceous aerosols during the autumn-winter period in Tianjin, China. *Aerosol and Air Quality Research*, pp. 283–294.
- Liang, Linlin, Engling, Guenter, Cheng, Yuan, Duan, Fengkui, Du, Zhenyu, & He, Kebin. (2013). Rapid detection and quantification of fungal spores in the urban atmosphere by flow cytometry. *Journal of Aerosol Science*, 66(0), 179 – 186.
- Life technologies. (2014). Bacterial Viability and Vitality Assays for Flow Cytometry. Membrane Integrity Viability Kits.
- Lighthart, B., & Kim, J. (1989). Simulation of airborne microbial droplet transport. *Applied and Environmental Microbiology*, 55(9), 2349.
- Lin, X., A. Reponen, T., Willeke, K., Grinshpun, S. A., Foarde, K. K., & Ensor, D. S. (1999). Long-term sampling of airborne bacteria and fungi into a non-evaporating liquid. *Atmospheric Environment*, 33(26), 4291–4298.
- Lorimier, C. (2005). Traitement combiné de composés organiques volatils et de particules sur médias fibreux. Ecole des Mines de Nantes.
- Lu, Z., Lu, W. Z., Zhang, J. L., & Sun, D. X. (2009). Microorganisms and particles in (AHU) systems: Measurement and analysis. *Building and Environment*, 44(4), 694 – 698.
- Lundholm, M. (1982). Comparison of methods for quantitative determinations of airborne bacteria and evaluation of total viable counts. *Applied and Environmental Microbiology*, 44(1), 179–183.
- Mainelis, G., Berry, D., Reoun An, H., Yao, M., DeVoe, K., Fennell, D. E., & Jaeger, R. (2005). Design and performance of a single-pass bubbling bioaerosol generator. *Atmospheric Environment*, 39(19), 3521–3533.
- Mainelis, G., Willeke, K., Baron, P., Reponen, T., Grinshpun, S. A., Gómy, R. L., & Trakumas, S. (2001). Electrical charges on airborne microorganisms. *Journal of Aerosol Science*, 32(9), 1087–1110.
- Mancinelli, R., & Shulls, W. A. (1978). Airborne bacteria in an urban environment. *Applied and Environmental Microbiology*, 35(6), 1095.
- Masclet, P., & Marchand, N. (2004). *Méthodes de prélèvement et d'analyse des aérosols*. Techniques de l'Ingénieur.
- Matthias-Maser, S., & Jaenicke, R. (1995). The size distribution of primary biological aerosol particles with radii > 0.2 µm in an urban/rural influenced region. *Atmospheric Research*, 39(4), 279–286.
- Matthias-Maser, S., Obolkin, V., Khodzer, T., & Jaenicke, R. (2000). Seasonal variation of primary biological aerosol particles in the remote continental region of Lake Baikal/Siberia. *Atmospheric Environment*, 34(22), 3805–3811.
- Matthias-Maser, S., Peters, K., & Jaenicke, R. (1995). Seasonal variation of primary biological aerosol particles. *Abstracts of the 1995 European Aerosol Conference*, 26(Supplement 1), S545–S546.
- Matthias-Maser, Sabine, & Jaenicke, Ruprecht. (1994). Examination of atmospheric bioaerosol particles with radii > 0.2 µm. *Journal of Aerosol Science*, 25(8), 1605–1613.
- Mauret, E., & Renaud, M. (1997). Transport phenomena in multi-particle systems – I. Limits of applicability of cappillary model in high voidage beds – application to fixed beds of fibers and fluidized beds of spheres. *Chemical Engineering Science*, pp. 1807–1817.
- Maus, R., Goppelsröder, A., & Umhauer, H. (2001). Survival of bacterial and mold spores in air filter media. *Atmospheric Environment*, 35(1), 105–113.
- May, K. R., & Harper, G. J. (1957). The efficiency of various liquid impinger samplers in bacterial aerosols. *British Journal of Industrial Medicine*, 14, 287.
- MEDDE. (2013). *Bilan de la qualité de l'air en France en 2012 et principales tendances observées au cours de la période 2000-2012*. Ministère de l'écologie, du développement durable et de l'énergie.
- Molleta-Denat, M. (2012). *Les aérosols microbiens dans l'air du temps: le point sur la microbiologie de l'air intérieur*. Techniques de l'Ingénieur.

- Monn, C. (2001). Exposure assessment of air pollutants: a review on spatial heterogeneity and indoor/outdoor/personal exposure to suspended particulate matter, nitrogen dioxide and ozone. *Atmospheric Environment*, 35(1), 1–32.
- Möritz, M., Peters, H., Nipko, B., & Rüden, H. (2001). Capability of air filters to retain airborne bacteria and molds in heating, ventilating and air-conditioning (HVAC) systems. *International journal of hygiene and environmental health*, 203(5-6), 401–409.
- Morris, C. E., Sands, D. C., Bardin, M., Jaenicke, R., Vogel, B., Leyronas, C., Ariya, P. A., & Psenner, R. (2008). Microbiology and atmospheric processes: an upcoming era of research on bio-meteorology. *Biogeosciences Discussions*, 5, 191–212.
- National Research Council. (2006). *Overcoming challenges to develop countermeasures against aerosolized bioterrorism agents*. Washington DC: National Academies Press.
- Noris, F., Siegel, J. A., & Kinney, K. A. (2011). Evaluation of HVAC filters as a sampling mechanism for indoor microbial communities. *Atmospheric Environment*, 45(2), 338–346.
- Nunes, Z. G., Martins, A. S., Altoe, A. L. F., Nishikawa, M. M., Leite, M. O., Aguiar, P. F., & Fracalanza, S. E. L. (2005). Indoor air microbiological evaluation of offices, hospitals, industries, and shopping centers. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 100(4), 351–357.
- Perdelli, F., Cristina, M. L., Sartini, M., Spagnolo, A. M., Dallera, M., Ottria, G., Lombardi, R., Grimaldi, M., & Orlando, P. (2006). Fungal contamination in hospital environments. *Infection control and hospital epidemiology*, 27(1), 44–47.
- Pigeot-Remy, S., Lazzaroni, J. C., Simonet, F., Petinga, P., Vallet, C., Petit, P., Vialle, P. J., & Guillard, C. (2014). Survival of bioaerosols in (HVAC) system photocatalytic filters. *Applied Catalysis B: Environmental*, 144(0), 654 – 664.
- Prescott, L., Harley, J., & Klein, D. (1995). Microbiologie. Bruxelles: De Boeck-Wesmael S.A.
- Prescott, L., Harley, J., & Klein, D. (2010). Microbiologie (3ème Edition.). Bruxelles: De Boeck-Wesmael S.A.
- Putaud, Jean-P., Raes, Frank, Van Dingenen, Rita, Brüggemann, Erika, Facchini, M. Cristina, Decesari, Stefano, Fuzzi, Sandro, Gehrig, Robert, ... Wiedensohler, Alfred. (2004). A European aerosol phenomenology—2: chemical characteristics of particulate matter at kerbside, urban, rural and background sites in Europe. *Atmospheric Environment*, 38(16), 2579–2595.
- Qian, Y., Willeke, K., Ulevicius, V., Grinshpun, S. A., & Donnelly, J. (1995). Dynamic size spectrometry of airborne microorganisms: Laboratory evaluation and calibration. *Atmospheric Environment*, 29(10), 1123–1129.
- Quintero, Elizabeth, Rivera-Mariani, Felix, & Bolaños-Rosero, Benjamin. (2010). Analysis of environmental factors and their effects on fungal spores in the atmosphere of a tropical urban area (San Juan, Puerto Rico). *Aerobiologia*, 26(2), 113–124.
- Rault, J. Y. (1991). La filtration de l'air. Paris: Les Editions Parisiennes-Chaud-Froid-Plomberie.
- Renoux, A., & Boulaud, D. (1998). Les aérosols: physique et métrologie (Vol. Tec & Doc-Lavoisier). Paris.
- Reponen, T., Willeke, K., Ulevicius, V., Grinshpun, S., & Donnelly, J. (1997). Techniques for dispersion of microorganisms into air. *Aerosol Science Technology*, 27(3), 405–421.
- Reponen, T., Willeke, K., Ulevicius, V., Reponen, A., & Grinshpun, S. A. (1996). Effect of relative humidity on the aerodynamic diameter and respiratory deposition of fungal spores. *Atmospheric Environment*, 30(23), 3967–3974.
- Reynolds, O. (1900). Papers on mechanical and physical subjects. Cambridge, Royaume-Uni.
- Rhodes, M. (1998). Introduction to particle technology. England: Jhon Wiley & Sons.
- Rodríguez-Rajo, F. J., Iglesias, I., & Jato, V. (2005). Variation assessment of airborne *Alternaria* and *Cladosporium* spores at different bioclimatical conditions. *Mycological Research*, 109(4), 497–507.
- Sautour, Marc, Sixt, Nathalie, Dalle, Frédéric, L'Ollivier, Coralie, Fourquenot, Vitalie, Calinon, Céline, Paul, Kusum, Valvin, Stéphanie, ... Bonnin, Alain. (2009). Profiles and seasonal distribution of airborne fungi in indoor and outdoor environments at a French hospital. *Science of The Total Environment*, 407(12), 3766 – 3771.
- Scheermeyer, E., & Agranovski, I. E. (2009). Design and evaluation of a new device for fungal spore aerosolization for laboratory applications. *Journal of Aerosol Science*, 40(10), 879–889.
- Seguin, D., Montillet, A., Comiti, J., & Huet, F. (1998). Experimental characterization of flow regimes in various porous media – II: Transition to turbulent regime. *Chemical Engineering Science*, pp. 3897 – 3909.

- Sesartic, A., & Dallafior, T. N. (2011). Global fungal spore emissions, review and synthesis of literature data. *Biogeosciences*, 8(5), 1181–1192.
- Shaffer, B. T., & Lighthart, B. (1997). Survey of the culturable airborne bacteria at four diverse locations in Oregon: urban, rural, forest and coastal. *Microbial Ecol*, 34, 167.
- Shelton, B. G., Kirkland, K. H., Flanders, D., & Morris, G. K. (2002). Profiles of airborne fungi in buildings and outdoor environments in the United States. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(4), 1743–1753.
- Simon, X., Duquenne, P., Koehler, V., Faure, M., & Greff-Mirguet, G. (2009). Caractérisation physique et biologique d'un bioaérosol expérimental généré par bullage d'air à travers un film de suspension bactérienne. (Vol. Paris, France). Presented at the 24ème Congrès Français sur les aérosols.
- Simon, X., Duquenne, P., Koehler, V., Faure, M., Piernot, C., & Coulais, C. (2010). Évaluation des performances d'un générateur de bioaérosols expérimentaux (Vol. Paris, France). Presented at the 25ème Congrès Français sur les Aérosols CFA 2010.
- Simon, Xavier, Duquenne, Philippe, Koehler, Véronique, Piernot, Cécile, Coulais, Catherine, & Faure, Marie. (2011). Aerosolisation of *Escherichia coli* and associated endotoxin using an improved bubbling bioaerosol generator. *Journal of Aerosol Science*, 42(8), 517 – 531.
- Sixt, N., Dalle, F., Lafon, I., Aho, S., Couillault, G., Valot, S., Calinon, C., Danaire, V., ... Bonnin, A. (2007). Reduced fungal contamination of the indoor environment with the Plasmair™ system (Airinspace). *Journal of Hospital Infection*, 65(2), 156–162.
- SKC Inc. (2011). Documentation technique des produits. Site web : <http://www.skcinco.com/>.
- Sorenson, W. G., Frazer, D. G., Jarvis, B. B., Simpson, J., & Robinson, V. A. (1987). Trichothecene mycotoxins in aerosolized conidia of *Stachybotrys atra*. *Applied and Environmental Microbiology*, 53(6), 1370–1375.
- Squizzato, S., Masiol, M., Brunelli, A., Pistollato, S., Tarabotti, E., Rampazzo, G., & Pavoni, B. (2013). Factors determining the formation of secondary inorganic aerosol: a case study in the Po Valley (Italy). *Atmospheric Chemistry and Physics*, 13(4), 1927–1939.
- Srikanth, P., Sudharsanam, S., & Steinberg, R. (2008). Bioaerosols in indoor environment: Composition, health effects and analysis. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 26(4), 302–312.
- Stetzenbach, L. D. (1998). Microorganisms and Indoor Air Quality. *Micriobiology Newsletter*, 20(19), 157–161.
- Stetzenbach, L. D., Buttner, M. P., & Cruz, P. (2004). Detection and enumeration of airborne biocontaminants. *Current opinion in biotechnology*, 15(3), 170–174.
- Sublett, J. L., Seltzer, J., Burkhead, R., Williams, P. B., Wedner, H. J., & Phipatanakul, W. (2010). Air filters and air cleaners: Rostrom by the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology Indoor Allergen Committee. *Journal of Allergie and Clinical Immunology*, 125(1), 32–38.
- Täubel, M., Sulyok, M., Vishwanath, V., Bloom, E., Turunen, M., Järvi, K., Kauhanen, E., Krska, R., ... Nevalainen, A. (2011). Co-occurrence of toxic bacterial and fungal secondary metabolites in moisture-damaged indoor environments. *Indoor Air*, 21(5), 368–375.
- Terzieva, S., Donnelly, J., Ulevicus, V., Grinshpun, S., Willeke, K., Stelma, G. N., & Brenner, K. P. (1996). Comparison of methods for detection and enumeration of airborne microorganisms collected by liquid impingement. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(7), 2264–2272.
- Thomas, D., Penicot, P., Contal, P., Leclerc, D., & Vendel, J. (2001). Clogging of fibrous filters by solid aerosol particles Experimental and modelling study. *Chemical Engineering Science*, 56(11), 3549–3561.
- TSI Incorporated. (2012). Aerodynamic Particle Sizer ®. Model 3321. Theory of operation.
- Tucker, K., Stolze, J. L., Kennedy, A. H., & Money, N. P. (2007). Biomechanics of conidial dispersal in the toxic mold *Stachybotrys chartarum*. *Fungal Genet. Biol.*, 44(7), 641.
- Ulevicius, V., Willeke, K., Grinshpun, S. A., Donnelly, J., Lin, X., & Mainelis, G. (1997). Aerosolization of particles from a bubbling liquid: characteristics and generator development. *Aerosol Science and Technology*, 26:2, 175–190.
- Van Brakel, J., Modry, S., & Svata, M. (1981). Mercury porosimetry: State of the art. *Powder Technology*, 29, 1–12.
- Vernozy-Rozand, C. (1999). *Méthodes de détection rapide en microbiologie alimentaire*. Techniques de l'Ingénieur.
- Wang, Wanfu, Ma, Yantian, Ma, Xu, Wu, Fasi, Ma, Xiaojun, An, Lizhe, & Feng, Huyuan. (2010). Seasonal variations of airborne bacteria in the Mogao Grottoes, Dunhuang, China. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 64(4), 309 – 315.

- Washburn, E. W. (1921). The dynamics of capillary flow. *Physical Review*, 17(3), 273–283.
- Witschger, O. (1996). Étude théorique et expérimentale des facteurs physiques d'échantillonnage des polluants particulaires. Application aux capteurs à fente annulaire. Université de Paris XII.
- Wittmaack, K., Wehnes, H., Heinzmann, U., & Agerer, R. (2005). An overview on bioaerosols viewed by scanning electron microscopy. *Science of The Total Environment*, 346(1-3), 244–255.
- Womiloju, Taiwo O., Miller, J. David, Mayer, Paul M., & Brook, Jeffrey R. (2003). Methods to determine the biological composition of particulate matter collected from outdoor air. *Atmospheric Environment*, 37(31), 4335–4344.
- Yu, B. F., Hu, Z. B., Liu, M., Yang, H. L., Kong, Q. X., & Liu, Y. H. (2009). Review of research on air-conditioning systems and indoor air quality control for human health. *International Journal of Refrigeration*, 32(1), 3–20.
- Zhang, Q., Jimenez, L., Canagaratna, M. R., Allan, J. D., Coe, H., Ulbrich, I., Alfarra, M. R., Takami, A., ... Worsnop, D. R. (2007). Ubiquity and dominance of oxygenated species in organic aerosols in anthropogenically-influenced Northern Hemisphere midlatitudes. *Geophysical research lettres*, 34(L13801).
- Zhang, Ting, Engling, Guenter, Chan, Chuen-Yu, Zhang, Yi-Nan, Zhang, Zhi-Sheng, Lin, Mang, Sang, Xue-Fang, Li, Y. D., & Li, Yok-Sheung. (2010). Contribution of fungal spores to particulate matter in a tropical rainforest. *Environmental Research Letters*, 5(2), 024010.

Annexes

Annexe 1. Analyse de la structure poreuse des médias filtrants fibreux étudiés, par porosimétrie au mercure

La structure poreuse des médias G4, F7 et F9 a été déterminée par porosimétrie au mercure comme décrit dans le **Chapitre 2**. Les distributions poreuses, différentielle et cumulée en fonction de la taille de pores, sont présentées sur les **Figure A1 - 1**, **Figure A1 - 2** et **Figure A1 - 3**, pour les 3 médias étudiés.

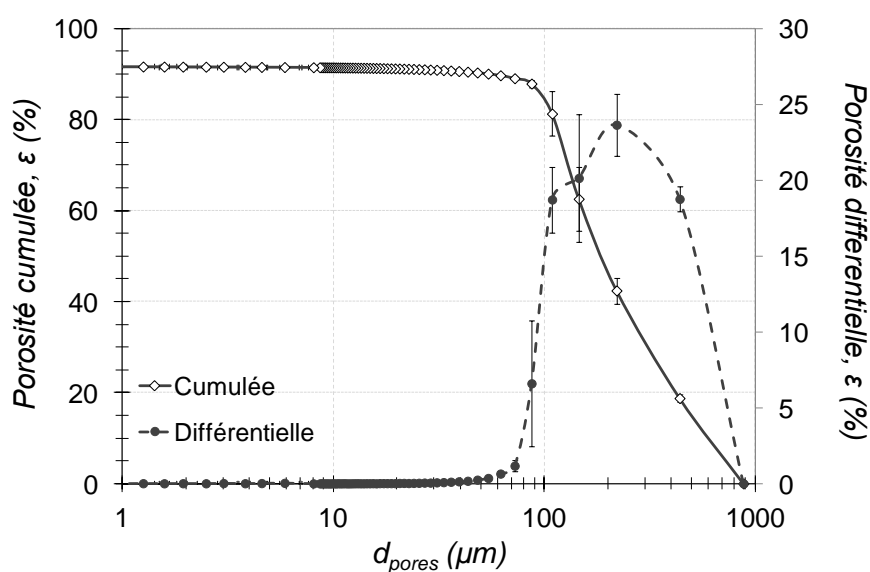


Figure A1 - 1. Distribution de pores du média G4.

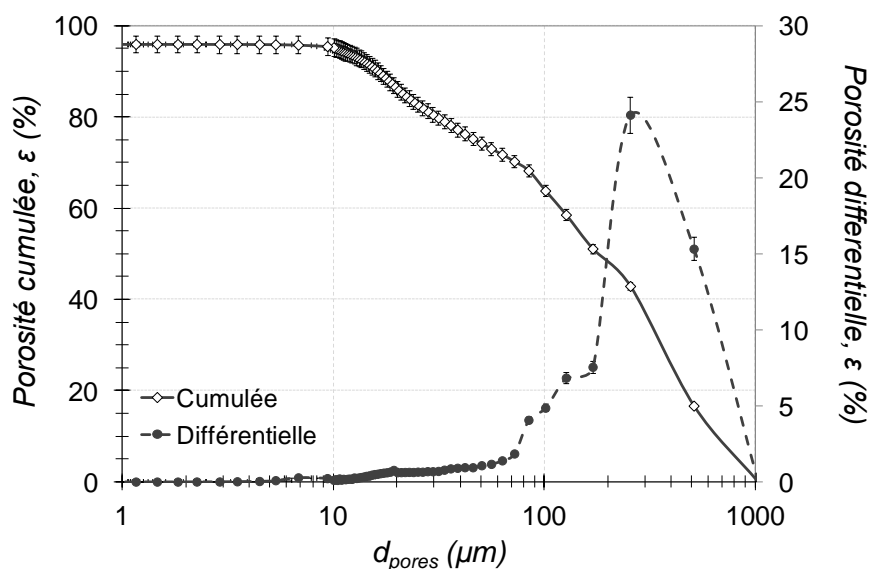


Figure A1 - 2. Distribution de pores du média F7.

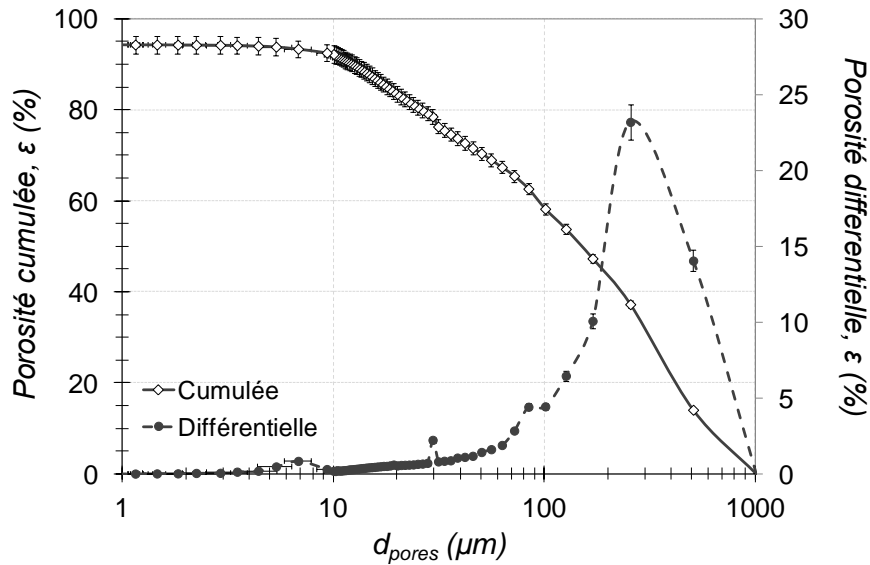


Figure A1 - 3. Distribution de pores du média F9.

Les courbes présentées correspondent à des valeurs moyennes sur 3 essais. Les barres d'incertitude correspondent à des valeurs maximales et minimales. Concernant le filtre **G4**, la porosité totale mesurée est de 92% et elle correspond également à la porosité interne du média. En effet, les deux porosités sont probablement interpénétrées et la porosité due à la rugosité en surface représente vraisemblablement un volume non quantifiable. La porosité totale des médias **F7** et **F9** est de 96 et 94% respectivement. Pour ces deux médias multicouches, l'ensemble des couches les composant a été analysée. Pour le filtre F7, il est possible d'identifier un mode principal aux alentours de 300 μm , ce qui représente la rugosité de surface du média. Probablement, il s'agit de la rugosité de la couche du média qui sert à donner de la résistance mécanique (couche en aval). Aux alentours de 100 μm , il est possible d'identifier un deuxième pic plus petit qui représente probablement la porosité interne du média, ce qui peut correspondre à la couche dite filtrante (couche en amont, de face au fluide). Une caractérisation de la distribution de pores est difficilement réalisable par couche dû à la difficulté de les séparer sans déstructurer le média. Pour le filtre F9, qui est aussi multicouches, la distribution de pores est similaire à celle du média F7.

Annexe 2. Protocoles de préparation de souches microbiennes et description des milieux de culture

Concernant la préparation de la suspension de spores d'*A. niger*, le protocole est le suivant :

- A partir d'une boîte de Petri ayant des colonies isolées d'*A. niger*, une colonie est récupérée à l'aide d'une oese et elle est introduite dans 1 mL d'eau ultra pure préalablement stérilisée.
- Après agitation de la suspension, 18 boîtes de Petri sontensemencés avec 200 µL. Cette opération est répétée 5 fois afin d'obtenir 18 boîtes. Le milieu RBC est utilisé pour la croissance d'*A. niger*. Des billes de verre sont utilisées pour étaler la suspension sur toute la surface de la boîte de Petri.
- Les boîtes sont incubées pendant 3 jours à 25°C.
- Après incubation, la croissance d'*A. niger* est évidente puisque de colonies noires confluentes sont présentes sur toute la surface du milieu. Dans chaque boîte de Petri, 20 mL d'une solution de MgSO₄ 0,01M, préalablement stérilisée à l'autoclave, sont introduits afin de récupérer les spores après une légère agitation manuelle.
- La suspension est récupérée, soit environ 20 mL de spores + solution de MgSO₄ par boîte, et elle est introduite dans des tubes à centrifuger.
- La suspension de spores récupérées est centrifugée pendant 10 min à 2000 x g. Après centrifugation, le surnageant est éliminé et 15 mL d'eau ultra pure sont introduits dans chaque tube pour remettre en suspension le culot de spores et une nouvelle centrifugation est réalisée. Au total, 3 séries de centrifugation sont réalisées afin de laver les spores récupérées.
- Enfin, 30 mL de suspension de spores sont récupérés dans l'eau déminéralisée. Pour 6 boîtes de Petri initiales, 30 mL de suspension de spores sont récupérés. Au total, pour la contamination des filtres dans la mini CTA, 90 mL de suspension de spores fongiques sont préparées. Un schéma simplifié du protocole est présenté sur la **Figure A2 - 1**.

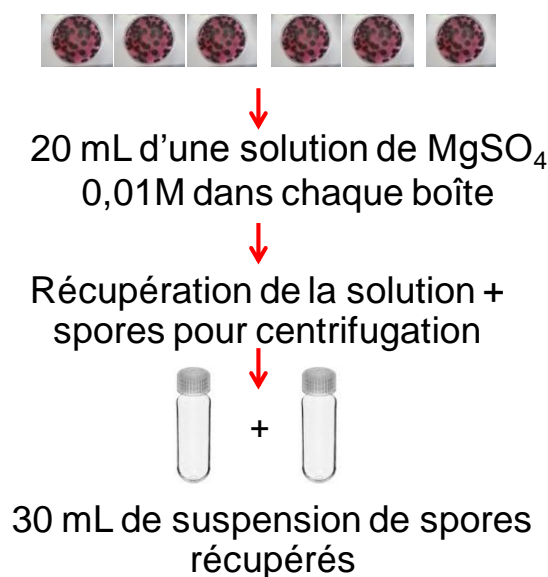


Figure A2 - 1. Protocole de préparation de la suspension de spores d'*A. niger*.

Concernant la préparation de la suspension de spores de *B. subtilis*, le protocole est le suivant :

- Une colonie de *B. subtilis* est récupérée à l'aide de l'oesse à partir d'une boîte de Petri ayant des colonies isolées. La colonie récupérée est introduite dans 1 mL d'eau ultra pure préalablement stérilisée à l'autoclave.
- 200 μL de cette suspension sont introduits dans 100 mL de bouillon nutritif préalablement stérilisé à l'autoclave.
- Ce bouillonensemencé est incubé pendant 84 h à 37°C en agitation permanente. Ce temps d'incubation a été défini préalablement, puisque des essais préliminaires ont été réalisés pour différents temps d'incubation (16h et 84h). La sporulation des bactéries a été observée pour la solution incubée pendant 84 h.
- Après incubation, la suspension de spores est introduite dans des tubes à centrifuger et elle est centrifugée pendant 10 min à raison de 8000 tours par minute. Après centrifugation, le surnageant est éliminé et seul le culot est conservé.
- 25 mL d'une solution de NaCl (9 g/L) est introduite dans chaque tube à centrifuger afin de poursuivre une deuxième série de lavage. Au total, 3 séries de centrifugation ont lieu afin de laver les spores bactériennes récupérées.

- Enfin, 50 mL de suspension de spores de *B. subtilis* sont récupérés dans une solution de NaCl. Un schéma simplifié du protocole de préparation est présenté sur la **Figure A2 - 2**.

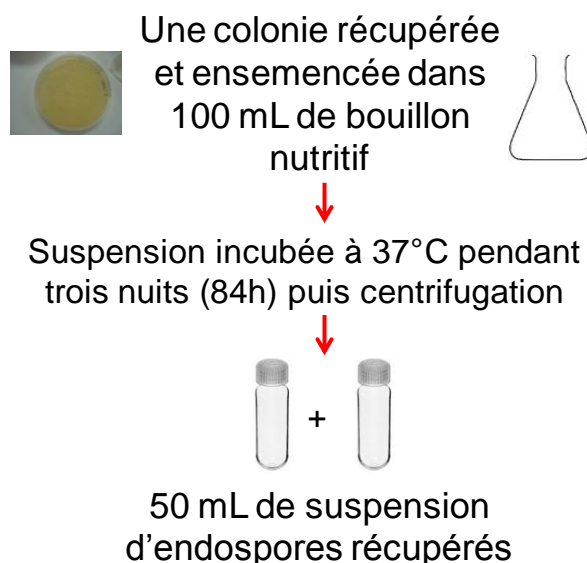


Figure A2 - 2. Protocole de préparation de la suspension de spores de *B. subtilis*.

Régulièrement, des colorations de Gram et des observations au microscope optique ont été réalisés afin de vérifier la présence de *B. subtilis* dans la suspension de spores récupérée.

Le consortium utilisé pour la contamination des filtres prototypes dans la mini CTA a été préparé de la manière suivante :

- 40 mL de suspension de spores de *B. subtilis*
- 90 mL de suspension de spores d'*A. niger*.
- 70 mL d'eau déminéralisée préalablement stérilisée à l'autoclave.

En conclusion, 200 mL de consortium sont préparés pour chaque essai dans la mini CTA. Ce consortium a été nébulisé à l'aide du générateur AGK 2000 afin de contaminer les filtres. La génération du consortium a eu lieu le jour même de sa préparation.

La composition des médias utilisés dans ces travaux est présentée ci-dessous:

Milieu Czapek

pH	Composant	Concentration (g/l)
7.3 ± 0.2	Saccharose	30.0
	Sodium Nitrate	3.0
	Dipotassium Phosphate	1.0
	Magnesium sulfate	0.5
	Potassium Chloride	0.5
	Ferrous Sulfate	0.01

Gélose nutritive

pH	Composant	Concentration (g/l)
7.2 ± 0.2	Tryptone	10
	Extrait de viande	5
	Chlorure de sodium	5

RBC

pH	Composant	Concentration (g/l)
5.6 ± 0.2	Polypeptone	5
	Glucose	10
	Phosphate Monopotassique	1
	Sulfate de magnésium	0.5
	Dichloran	0.002
	Rose Bengale	0.025
	Chloramphénicol	0.05
	Chlorhydrate de chlortétracycline	0.05
	Sulfate de zinc	0.01
	Sulfate de cuivre	0.005
	Agar Agar bactériologique	12.4
	Tergitol	1

Annexe 3. Validation aéraulique de la mini CTA

La phase de validation aéraulique de la mini CTA a deux objectifs (c.f. Validation aéraulique – Chapitre 3):

- Vérifier expérimentalement l'homogénéité de l'écoulement en amont des filtres (**P1**, cf. **Figure A3 - 1a**). Ce point de mesure se trouve à une longueur droite de 120 cm du point d'injection d'aérosols, équivalent à 10 fois le diamètre hydraulique.
- Vérifier expérimentalement le profil de l'écoulement en aval du deuxième filtre afin d'évaluer l'effet du coude sur l'écoulement au niveau du prélèvement) (**P3**, cf. **Figure A3 - 1b**).

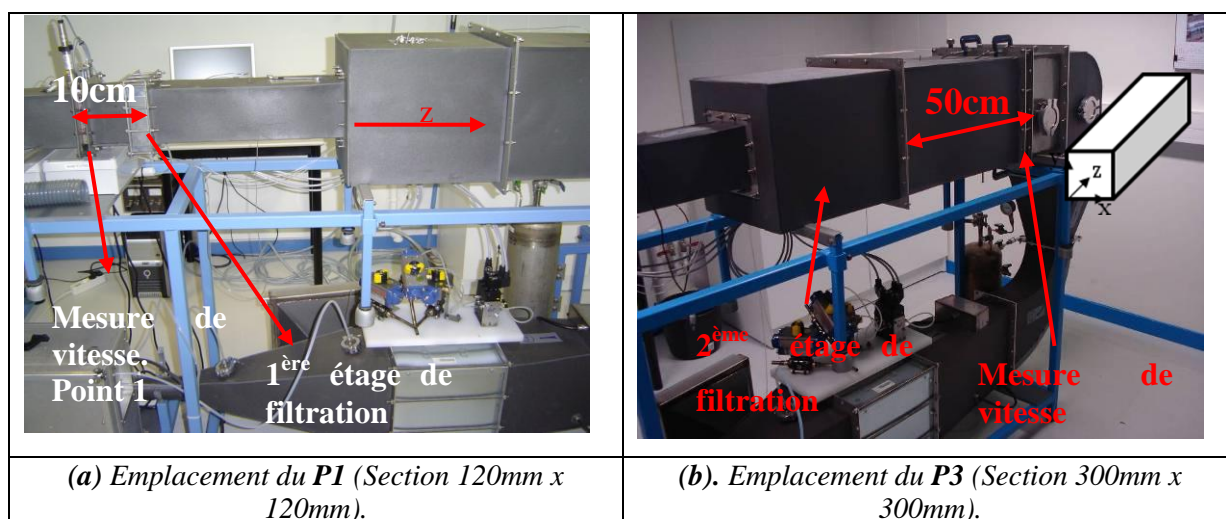


Figure A3 - 1. Mesures de vitesses dans la gaine.

La démarche expérimentale a consisté à mesurer la vitesse à différents points (x,y) sur un même plan. Tous les profils des vitesses ont été réalisés sans régulation de l'humidité relative (HR). Par contre, du fait que certains promoteurs de turbulence provoquaient une augmentation de la température (T), celle-ci a été régulée pour certains essais (voir remarques du **Erreur ! Source du renvoi introuvable.**). Dans tous les cas, les conditions de T et de HR étaient suivies et connues. Un cadre permettant la mesure des vitesses à différents points dans la gaine a été installé. 25 points ont été mesurés comme présenté dans la **Figure A3 - 2**. La direction z représente la direction de l'écoulement.

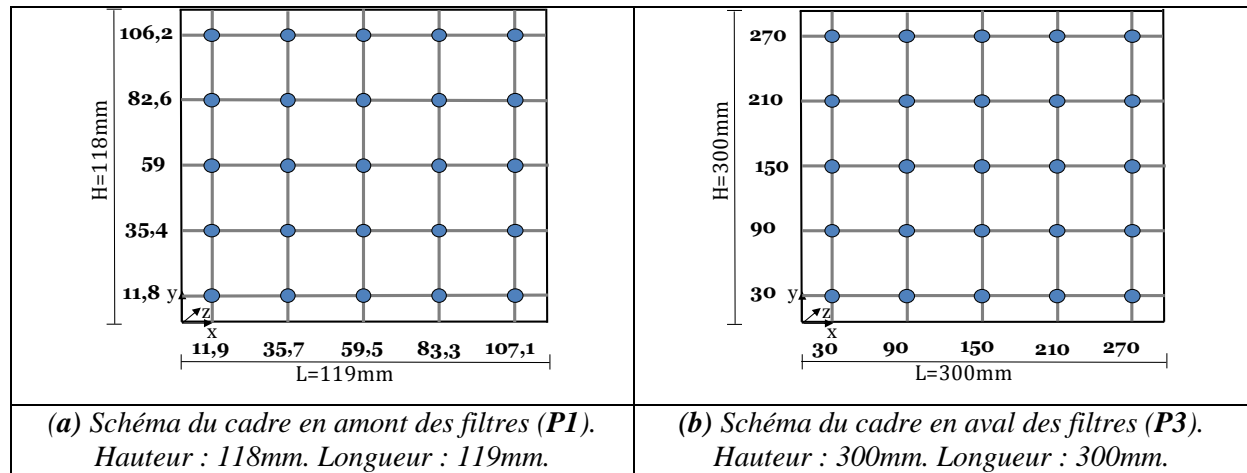


Figure A3 - 2. Représentation des points de mesure de vitesses pour le Point 1 (a) et le Point 2 (b).

L'appareil de mesure qui a été utilisé était un anémomètre à fil chaud VELOPORT 20 pouvant fonctionner avec deux sondes de mesure différentes :

- 0 - 2 m/s \pm (0,04 m/s + 1% de la valeur lue) : sonde utilisée pour la mesure à débit réduit,
- 0 - 20 m/s \pm (0,2 m/s + 2% de la valeur lue) : sonde utilisée pour la mesure à débit nominal.



Figure A3 - 3. Anémomètre à fil chaud

A chaque point, la vitesse a été mesurée pendant 1 minute. La moyenne a été estimée par l'observateur du fait que la sonde ne permet pas l'enregistrement de données. Les déviations observées sur les profils des vitesses correspondent aux valeurs maximales et minimales mesurées sur la minute d'observation. Les profils des vitesses ont été mesurés avec différentes conditions. La configuration définitive a été choisie en sélectionnant les conditions permettant d'obtenir le profil le plus adapté (en termes d'homogénéité et de symétrie). Plusieurs mesures des profils de vitesses ont été réalisées, notamment au **P1**, considéré comme critique car il

caractérise l'homogénéité du colmatage. Les résultats sont présentés ci-après, tout d'abord pour le **P1**, puis pour le **P3**.

P1. Amont des filtres

Les différentes conditions étudiées sont récapitulées dans le **Tableau A3 - 1** :

Tableau A3 - 1. Conditions étudiées pour P1

Conditions	Description
1	Avec filtres, sans grille, sans buse de génération, ancien échangeur de chaleur
2	Avec filtres, avec grille No.1, sans buse de génération, ancien échangeur de chaleur
3	Avec filtres, avec grille No.1, avec buse de génération, ancien échangeur
4	Sans filtres, avec grille No.1, sans buse de génération
5	Sans filtres, sans grille, sans buse, ancien échangeur de chaleur
6	Sans filtres, sans grille, sans buse de génération, avec nouvel échangeur de chaleur
7	Sans filtres, avec nouveau promoteur de turbulence, nouvel échangeur de chaleur
8	Sans filtres, avec grille No. 2 en aval du coude de génération, nouvel échangeur de chaleur
9	Sans filtres, 2 grilles type No. 2, en aval du coude et en amont de l'échangeur de chaleur. Configuration retenue avec la canalisation à vide.
10	Même configuration que la condition 9. Buse de génération en place.
11	Même configuration que la condition 9. Buse de génération en place et débit de génération en route (5m ³ /h d'air sec du réseau).
12	Même configuration que la condition 9. Buse de génération en place et débit de génération en route (5m ³ /h d'air sec du réseau). Filtre prototype G4 en place en premier étage et buse de prélèvement en amont du filtre. Condition de colmatage des filtres.

Chaque profil a été nommé avec la condition étudiée ainsi que le débit de consigne. Par exemple, le profil P1.140 correspond à la condition 1 avec un débit de 140 Nm³/h. Le profil P2b.30 correspond à la condition 2 avec un débit 30 Nm³/h, l'indice b indiquant qu'il s'agit du deuxième profil avec cette condition.

Il y a eu un changement dans le logiciel qui gère la mini CTA pour la définition de la consigne du débit à partir du profil P5b.140. A partir de cet essai, il est possible de fixer le débit volumique en m³/h et non plus le débit massique en Nm³/h).

Un tableau récapitulatif des différentes configurations étudiées est présenté ci-dessous.

Tableau A3 - 2. Récapitulatif des conditions étudiées pour la mesure du champ de vitesses en amont du premier étage de filtration.

Profil	Date	Q _{consigne} (Nm ³ /h)	Filtres	Grille	Buse de génération	V _{mov} (m/s)	V _{max} (m/s)	V _{min} (m/s)	Q _{calculé} (Nm ³ /h)	Range T (°C)	Range HR (%)	Erreur relative (%) Q _{consigne} et Q _{calculé}	Conclusions
P1.140	22/02/12	140	X			3,1	3,5	2,2	145	24,1-24,9	22-33	4	Profil non homogène.
P2.140	16/03/12	140	X	X ^a		2,8	3,1	2,3	129	26,6-26,7	30,9-33	8	Perte de charge importante avec cette grille, ce qui génère une augmentation importante de la T surtout à 140Nm ³ /h (malgré une régulation de T). La buse de génération ne présente pas d'influence sur le profil. Répétabilité Ok.
P2b.140	25/04/12	140	X	X ^a		2,8	3,1	2,3	128	25,1-26,2	32,1-34	9	
P2.30	25/04/12	30	X	X ^a		0,7	0,8	0,6	33	20,6-21	39,2-48,8	11	
P2b.30	26/04/12	30	X	X ^a		0,7	0,8	0,6	33,3	20,1-20,8	38,1-40	11	
P3.140	26/04/12	140	X	X ^a	X	2,8	3,1	2,3	128	26,2-26,3	30,6-31,8	9	
P2c.140	09/05/12	140	X	X ^a		3,1	3,4	2,8	144,4	26,9-27,8	49,1-51,7	3	
P2d.140	09/05/12	140	X	X ^a		3,1	3,4	2,7	141,3	28,5	47,7-48	1	
P2c.30	09/05/12	30	X	X ^a		0,6	0,7	0,5	30,7	20,2-21,7	21,7	3	Profil non homogène. Températures élevées.
P4.140	15/05/12	140		X ^a		3,1	3,4	2,7	141,9	26,2-26,4	-	1	
P5.140	22/06/12	140				2,9	3,2	2,4	133	28,5-29,1	48,7-52,3	5	Améliorations au niveau de la T. Pas d'effet significatif sur le profil dû au nouvel échangeur. Profil reste non homogène.
P5b.140	09/07/12	130*				2,8	3,2	2,4	130	29,1-29,8	51,7-54	0	
P6.140	25/07/12	129*				2,9	3,2	2,3	133,9	23,2-24,2	60	4	Profil non homogène.
P7.140	21/09/12	129*		X ^b		2,9	3,3	2,4	136,7	23,8-24,4	51,4-52	6	Légère amélioration du profil de vitesse.
P8.140	01/10/12	133*		X ^c		2,9	3,3	2,2	136,1	25,8-26,7	57	2	Remarque : Pas de régulation de la T. Conclusion : Profil de vitesse homogène.
P9.140	03/10/12	130,7*		X ^d		2,9	3,3	2,3	134,2	27,4-27,8	56	3	
P9b.140	09/10/12	129,8*		X ^d		2,9	3,3	2,1	131,6	28,7-29	55,7-62,3	1	Remarque : Pas de régulation de T. Légère influence de la buse de génération.
P10.140	30/10/12	129,6*		X ^d	X	2,8	3,2	2,2	126,2	30,8-31	69,5	3	
P10b.140	31/10/12	129,8*		X ^d	X	2,8	3,1	2,2	125,3	29,3-30	67	3	Bonne reproductibilité.
P10.30	30/10/12	-		X ^d	X	0,6	0,7	0,5	28,6	22-22,2	80-82	5	
P10b.30	31/10/12	-		X ^d	X	0,6	0,7	0,5	28,4	22,4-22,7	-	-	Remarque : Régulation de T OK. Profil non homogène avec le débit de génération.
P11.140	31/10/12	-		X ^d	X	2,9	3,5	2,1	136,8	22,7-23	-	-	
P11b.140	14/11/12	-		X ^d	X	3,0	3,5	2,2	139,1	23	22-65	-	La buse a été recentrée.
P11c.140	16/11/12	-		X ^d	X	3,0	3,3	2,5	138,6	23	48-75	-	

P11d.140	19/11/12	-		X ^d	X	3,0	3,4	2,5	139,9	22,7	139,9	-	Conclusion : Profil de vitesse homogène.
P12.140	27/11/12	-	X	X ^d	X	2,9	3,3	2,1	134,1	23-23,2	134,1	-	Remarque : Effet de la buse de prélèvement en amont du filtre. Ceci a permis de définir l'échantillonnage des filtres pour analyses microbiologiques.

* Q_{consigne} : Débit d'écoulement fixé (géré par le logiciel). Changement dans le logiciel pour la définition de la consigne à partir du profil

P5b.140. Il est possible de fixer le débit volumique en m³/h (non plus le massique en Nm³/h)

Erreur relative (%) = $(|Q_{\text{consigne}} - Q_{\text{calculé}}|) * 100 / Q_{\text{consigne}}$ (comparaison des débits en Nm³/h)

V_{moy} : Vitesse moyenne estimée sur une durée d'observation de 1 minute

V_{max} : Vitesse maximale observée pendant 1 minute d'observation

V_{min} : Vitesse minimale observée pendant 1 minute d'observation

Q_{calculé} : Correspond à la valeur de débit volumique calculée issue de l'intégration de vitesses locales mesurées (25 point), en prenant en compte la masse volumique de l'air aux conditions de température et d'humidité de l'essai.

^a Grille mise en place dans le coude de génération (40% de vide) (c.f. **Figure A3 - 4**)

^b Promoteur de turbulence mis en place dans le coude de génération (c.f. **Figure A3 - 5**)

^c Grille mise en place en aval du coude de génération (22% de vide, diamètre de trou 1mm, entraxe 2mm) (c.f. **Figure A3 - 6**)

^d Deux grilles mises en place (20% de vide chacune), en amont de l'échangeur de chaleur et en aval du coude (**Figure A3 - 6**)

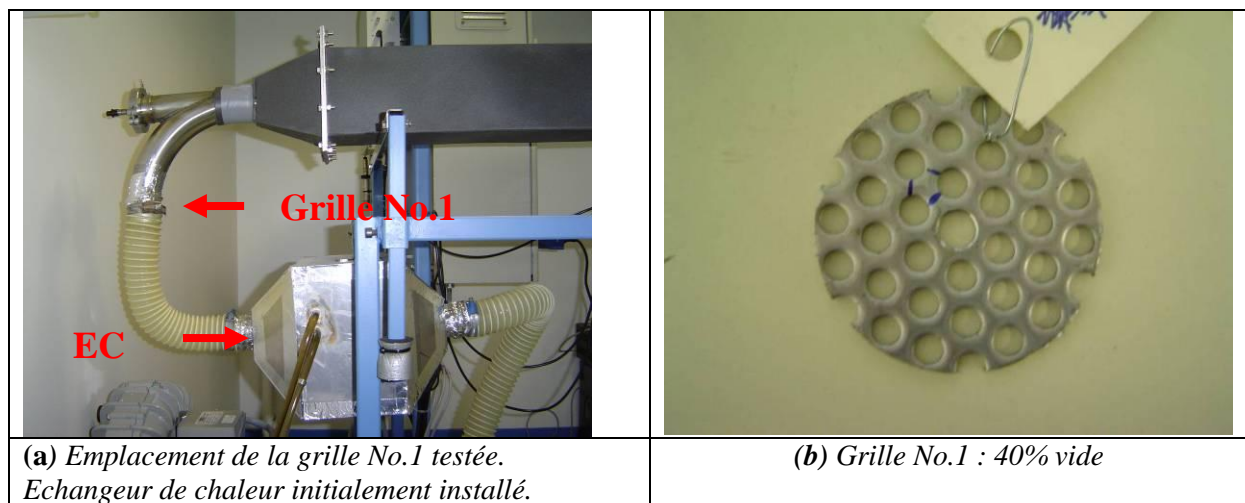


Figure A3 - 4. Grille No.1

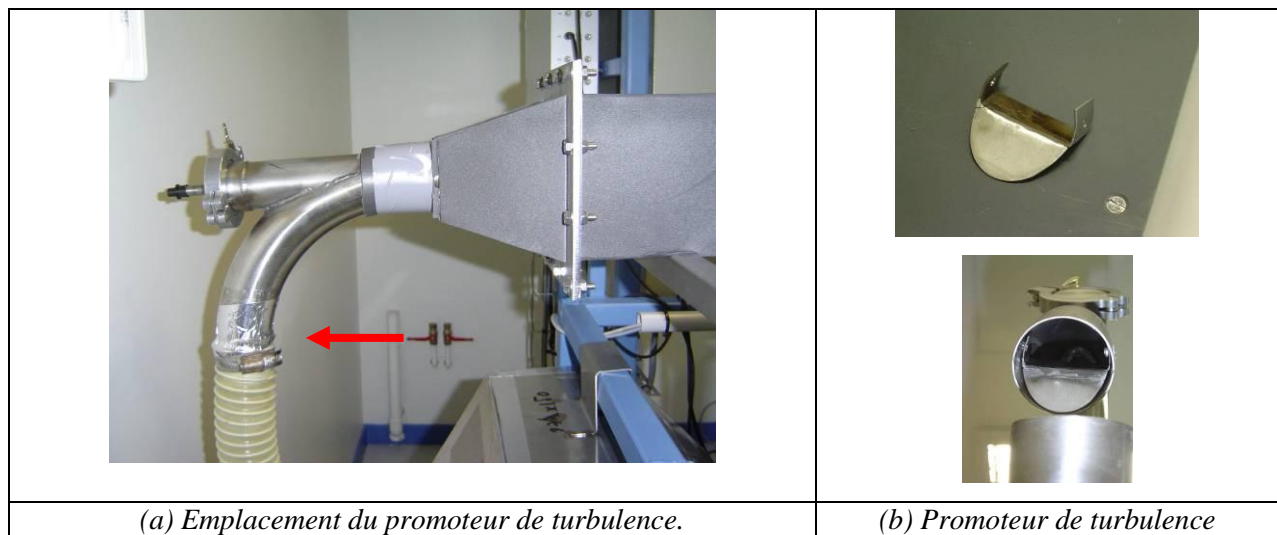


Figure A3 - 5. Promoteur de turbulence



Figure A3 - 6. Emplacement des deux grilles d'homogénéisation : l'une dans l'échangeur de chaleur et l'autre en aval du coude de la génération de particules.

Quelques exemples des profils de vitesses mesurés sont présentés sur les **Figures 7 à 9**.

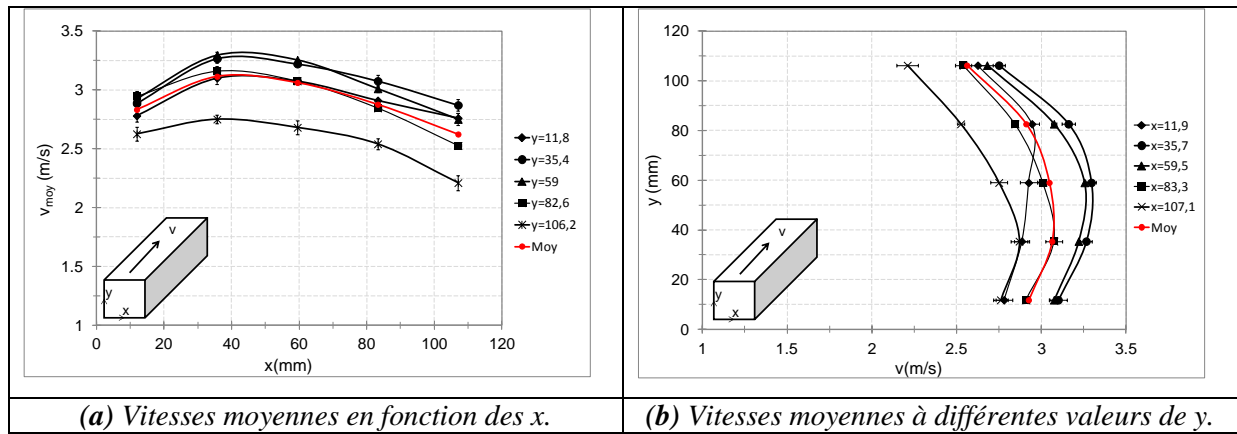


Figure A3 - 7. Profils des vitesses, condition 9.

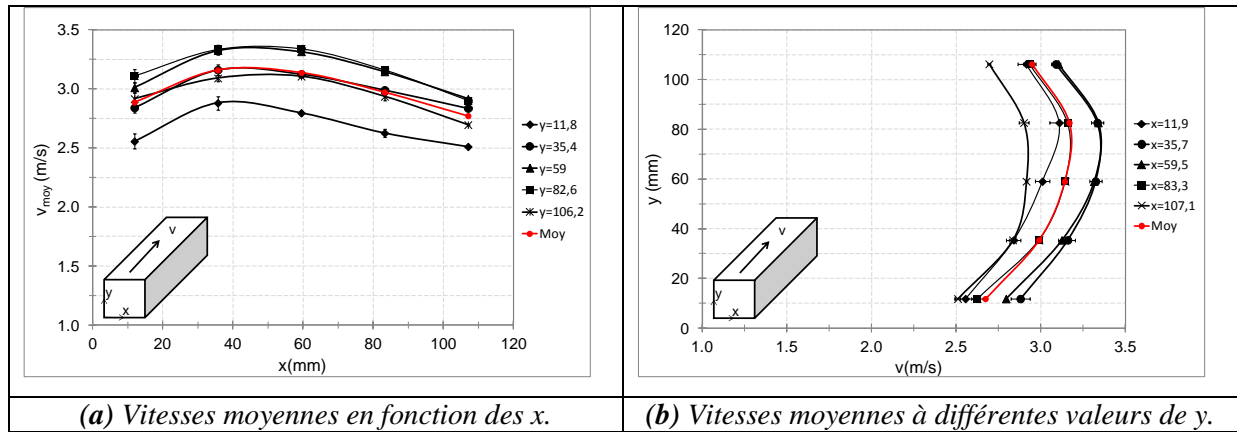


Figure A3 - 8. Profils des vitesses, condition 11.

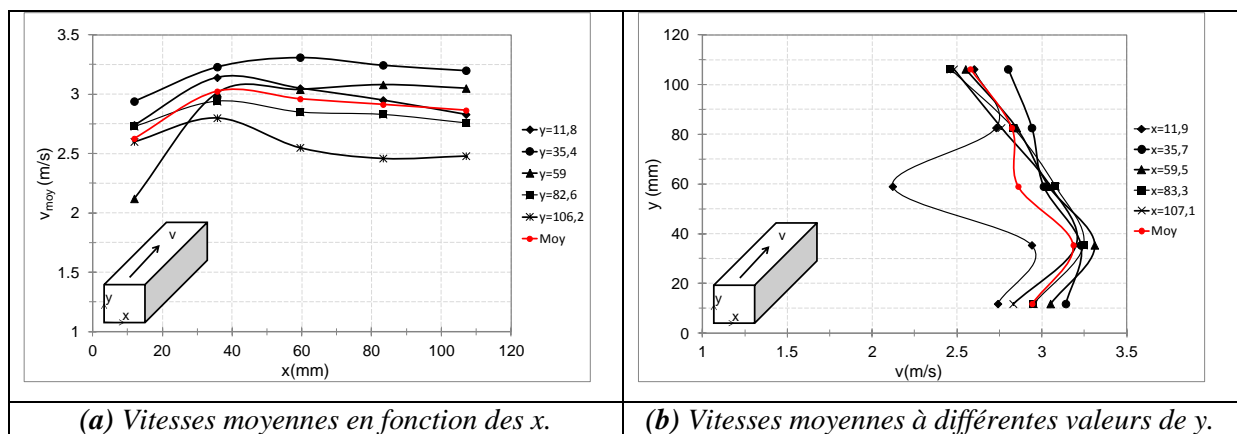


Figure A3 - 9. Profils des vitesses, condition 12.

Les conclusions concernant **P1** sont :

- Pour une condition donnée, une bonne répétabilité a été observée entre deux essais réalisés. C'était le cas pour toutes les conditions étudiées.
- Amélioration du système de refroidissement de l'air. Certains promoteurs de turbulence provoquaient une perte de charge importante qui conduisait à l'augmentation de la température dans le banc d'essais. Cette perte de charge supplémentaire augmentait également la fréquence du ventilateur. Cette observation a été à l'origine de l'amélioration du système de refroidissement de l'air. Pour ce faire, un nouvel échangeur, qui optimisait la surface de contact eau/air, et un groupe froid plus performants ont été mis en place.
- Un nouvel échangeur et un groupe froid plus performants ont ainsi été mis en place. Le nouvel échangeur de chaleur n'a pas eu d'effet significatif sur le champ des vitesses. Les différences sont comprises entre les barres d'incertitude de la mesure (écarts entre les vitesses moyennes inférieurs à 5%)
- Nécessité de deux grilles d'homogénéisation : une en amont de l'échangeur de chaleur (le plus performant) et une autre en aval du coude (condition 9).
- La buse de génération n'a pas d'influence sur le profil des vitesses.
- Influence significative de la buse de prélèvement située en amont du premier étage de filtration filtres sur le profil des vitesses. En effet, l'écoulement passe peu derrière la buse de prélèvement, car des vitesses faibles ont été observées dans cette zone-là. Cette disparité de l'écoulement a été intégrée dans le protocole de d'échantillonnage des filtres en fin d'essai pour les analyses microbiologiques.

P3. Aval des filtres

Les conditions étudiées pour **P3** sont présentées dans le tableau ci-dessous :

Tableau A3 - 3. Conditions d'étude pour le P3.

Conditions	Description
A	Avec filtres, avec grille No.1, sans buse de génération, ancien échangeur de chaleur. Profil réalisé près du coude qui conduit à la recirculation Erreur ! Source du renvoi introuvable. Filtre prototype à poches placé en deuxième étage.
B	Sans filtres, avec grille No.1, sans buse de génération, ancien échangeur de chaleur. Profil réalisé à 20 cm en amont du coude qui conduit à la recirculation Erreur ! Source du renvoi introuvable. Filtre prototype à poches placé en deuxième étage. Ouverture des poches. Configuration retenue pour la canalisation à vide.
C	Même condition que B, avec les filtres. Configuration retenue pour la configuration avec filtres.

Les deux points de mesure du profil des vitesses sont présentés dans la **Figure A3 - 10** :

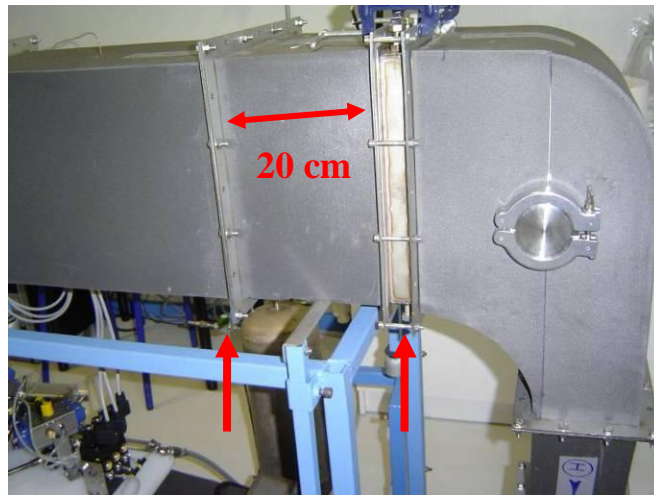


Figure A3 - 10. Emplacement des points de mesure des vitesses en aval des filtres

Un tableau récapitulatif des différentes configurations étudiées est présenté dans le **Tableau A3 - 4**.

Tableau A3 - 4. Récapitulatif des conditions étudiées pour la mesure du champ de vitesses en aval des filtres.

Profil	Date	Q _{consigne} (Nm ³ /h)	Filtres	Grille	Buse de génération	V _{mov} (m/s)	V _{max} (m/s)	V _{min} (m/s)	Q _{calculé} (Nm ³ /h)	Range T (°C)	Range HR (%)	Erreur relative (%) Q _{consigne} et Q _{calculé}	Conclusions
PA.140	10/05/12	140	X	X ^a		0,49	0,76	0,07	143,7	27,2-29,1	48-49	3	Effet du coude
PB.140	23/05/12	140		X ^a		0,60	1,55	0,25	-	24-30	50	-	Fluctuations de vitesse importantes.
PC.140	14/05/12	140	X	X ^a		0,46	0,55	0,32	135,0	27-27,6	26	4	Effet du coude moins important du fait de l'effet homogénéisateur du filtre placé en deuxième étage.

* Q_{consigne} : Débit d'écoulement fixé (géré par le logiciel). Changement dans le logiciel pour la définition de la consigne à partir du profil P5b.140. Il est possible de fixer le débit volumique en m³/h (non plus le massique en Nm³/h)

Erreur relative (%) = $(|Q_{consigne} - Q_{calculé}|) * 100 / Q_{consigne}$ (comparaison des débits en Nm³/h)

V_{moy} : Vitesse moyenne estimée sur une durée d'1 minute d'observation

V_{max} : Vitesse maximale observée pendant 1 minute d'observation

V_{min} : Vitesse minimale observée pendant 1 minute d'observation

Q_{calculé} : Correspond à la valeur de débit volumique calculée issue de l'intégration de vitesses locales mesurées (25 point), en prenant en compte la masse volumique de l'air aux conditions de température et d'humidité de l'essai.

^a Grille mise en place dans le coude de génération (40% de vide) (c.f. **Figure A3 - 6**)

Les profils des vitesses sont présentés sur les Figures A3-11 à A3-13.

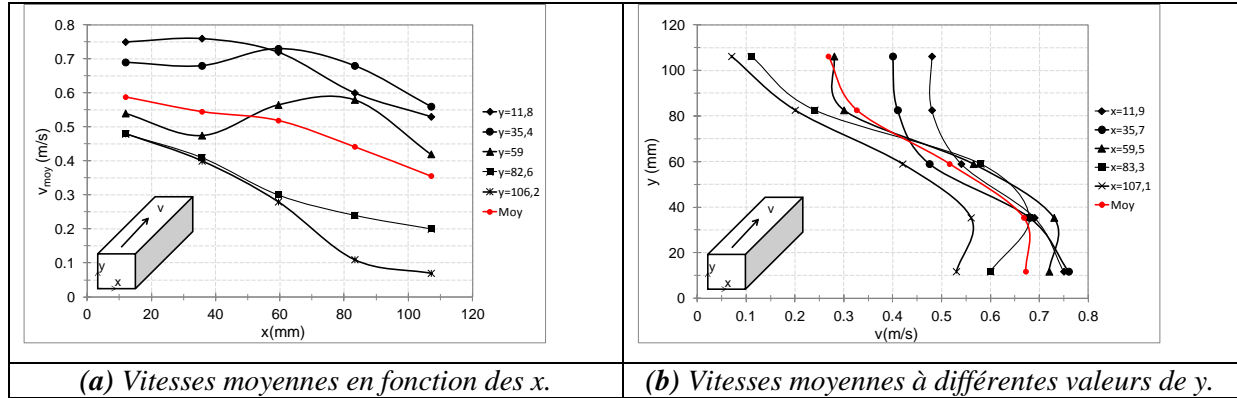


Figure A3 - 11. Profils des vitesses, condition A

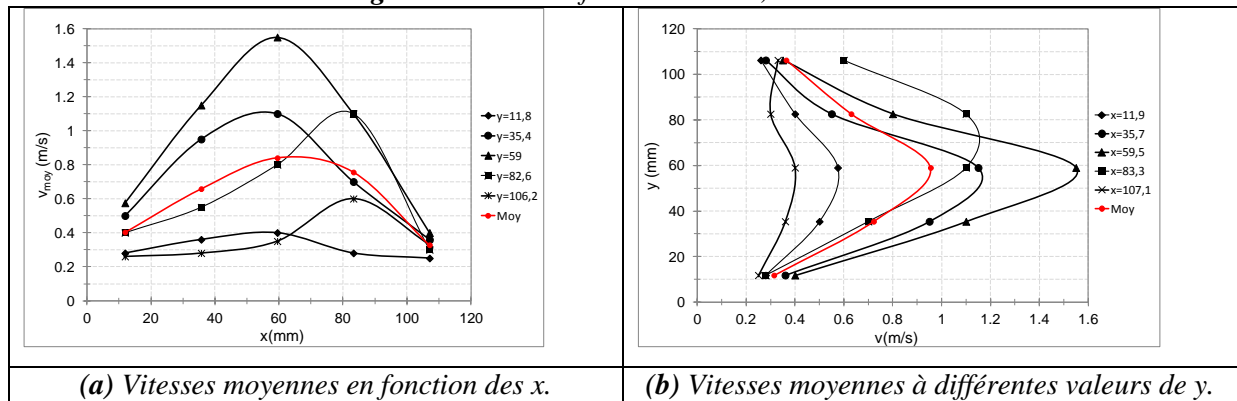


Figure A3 - 12. Profils des vitesses, condition B

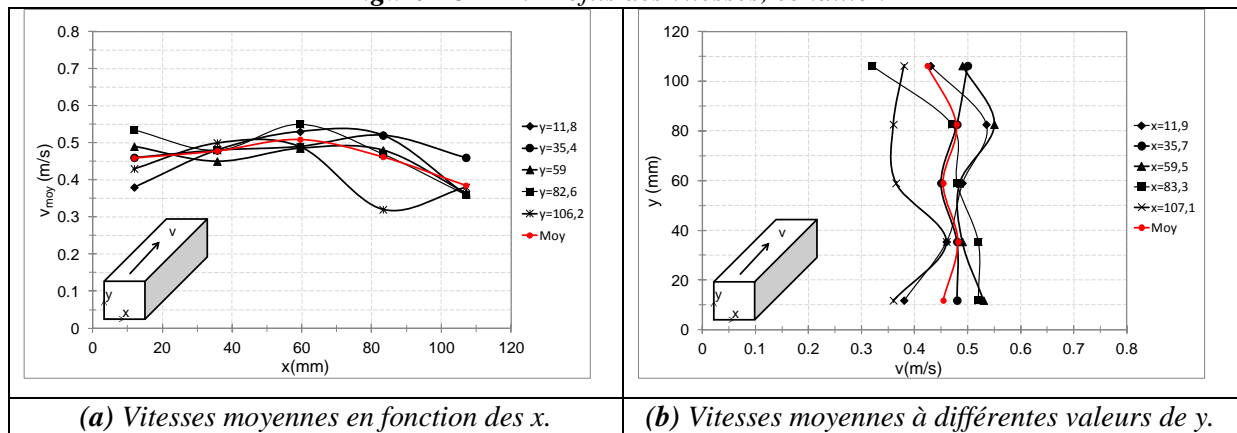


Figure A3 - 13. Profils des vitesses, condition C

Les conclusions concernant **P3** sont :

- Le point de prélèvement en aval du deuxième étage a été déplacé 20 cm en amont du coude de recirculation.
- L'importance de bien ouvrir les poches des filtres placés en deuxième étage a été mise en évidence. Cette pratique a été employée pour chaque essai de colmatage.
- Le filtre à poche placé en deuxième étage a un effet homogénéisateur de l'écoulement (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**).
- Le champ des vitesses n'a pas été mesuré lorsqu'un filtre dièdre est placé en deuxième étage.

Annexe 4 Validation de la régulation des paramètres climatiques de la mini CTA

L'objectif de la validation aéraulique est d'évaluer la performance des systèmes de régulation de l'humidité relative et de la température dans la mini CTA. Ces tests de régulation ont été réalisés sur plusieurs jours afin d'avoir des durées semblables à celles utilisées pour les essais finaux (plusieurs semaines).

La démarche expérimentale est présentée par la **Figure A4 - 1**. Dans un premier temps, un simple suivi des paramètres climatiques (T et HR) aux conditions nominales a été réalisé. Ensuite, le premier cas d'étude a été réalisé, à savoir le fonctionnement du banc avec régulation de l'HR à 80% et une température inférieure à 25°C dans le banc (température du groupe froid fixée à 22°C). L'effet du passage à débit réduit a également été étudié. Le deuxième cas d'étude correspond au fonctionnement du banc avec la régulation de l'HR à 60% et la même consigne de température que pour le premier cas. L'effet du passage à débit réduit puis de nouveau à débit nominal a également été étudié.

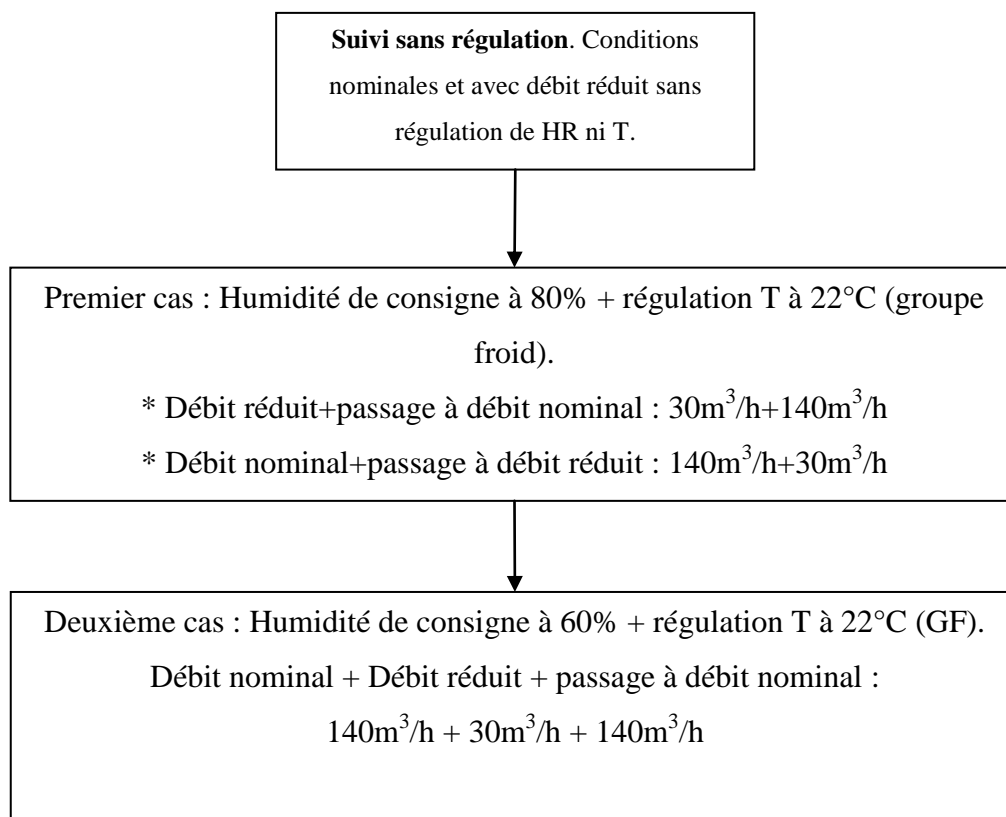


Figure A4 - 1. Démarche pour la validation de la régulation de HR et T

Pour tous les résultats présentés ci-dessous, la fréquence d'enregistrement des paramètres était de 60s.

Suivi des paramètres sans régulation d'HR ni de T.

L'observation des paramètres du banc d'essais sans régulation climatique s'est réalisée, dans un premier temps avec les conditions nominales, et dans un second temps avec un débit réduit.

Concernant les conditions nominales, l'évolution du débit, de la température et de l'humidité relative sur une durée de 7 h est présentée par la **Figure A4 - 2**. Dans le **Tableau A4 - 1**, quelques données du début et de la fin du suivi sont regroupées.

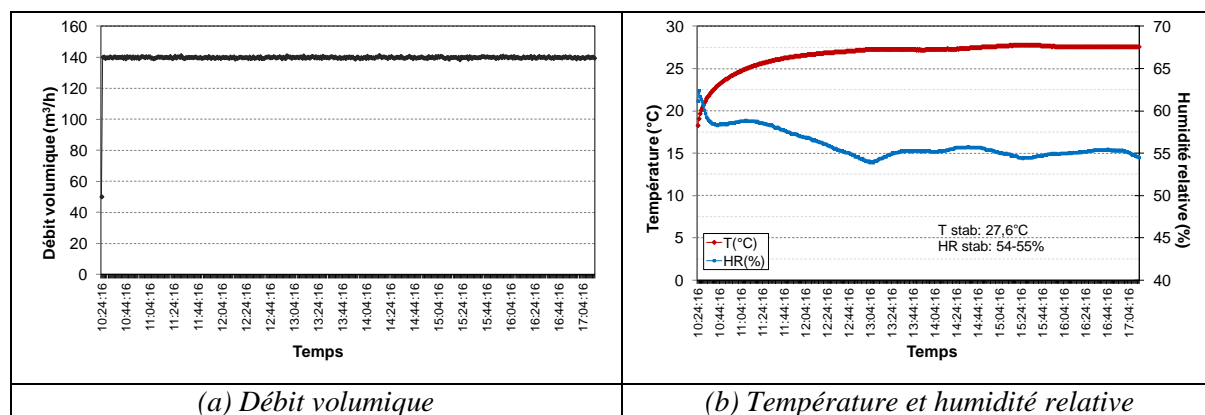


Figure A4 - 2. Suivi du débit, de la température et de l'humidité relative dans la mini CTA aux conditions nominales.

Tableau A4 - 1. Valeurs des paramètres au début et à la fin de l'observation à des conditions nominales sans régulation climatique

	Initial (10h24)	Final (17h13)
Température (°C)	18,3	27,6
HR (%)	61,2	54,5
Masse volumique (kg/m³)	1,208	
Pression absolue (mbar)	1011-1013	

L'évolution du débit, de la température et de l'humidité relative sur une durée de 20h, à débit réduit, est présentée par la **Figure A4 - 3**. Dans le **Tableau A4 - 2**, quelques données du début et de la fin du suivi sont regroupées.

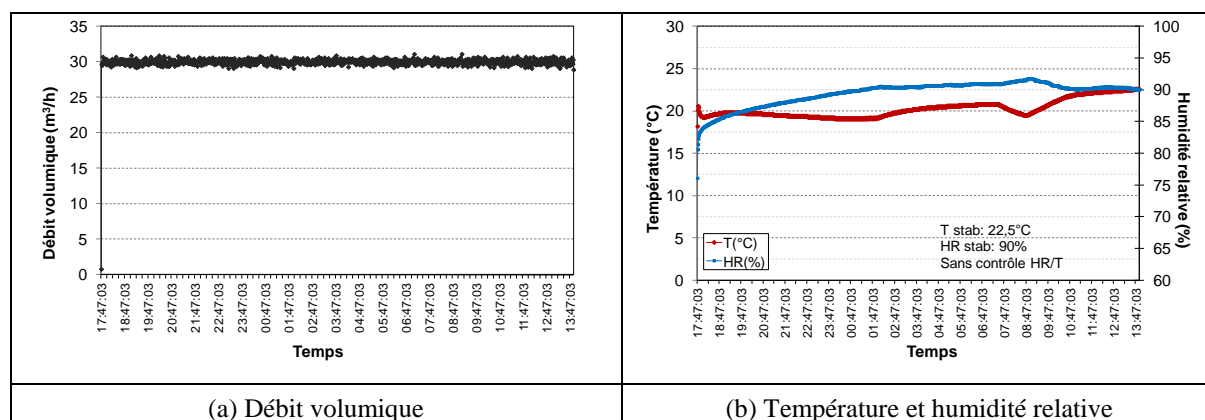


Figure A4 - 3. Suivi du débit, de la température et de l'humidité relative dans la mini CTA avec un débit réduit.

Tableau A4 - 2. Valeurs des paramètres au début et à la fin de l'observation à débit réduit sans régulation climatique

	Initial (17h47)	Final (13h55, lendemain)
Température (°C)	18,2	22,6
HR (%)	76	90
Masse volumique (kg/m ³)	1,2	
Pression absolue (mbar)	1002-1008	

Cet essai permet de conclure que :

- Concernant **le débit**, qu'il soit réduit ou nominal, il est maintenu avec une variation inférieure à 1% sur de longues durées (jusqu'à 20h d'observation). Cette caractéristique a été observée tout au long des essais qui se sont poursuivis pendant 1 semaine. De plus, la consigne de débit est atteinte après 1 minute.
- Concernant **la température**, avec un débit d'air à 140 m³/h, elle augmente. La température se stabilise après 5,5 heures de fonctionnement avec un ΔT de 9,3°C. A débit réduit, une augmentation de la température a également lieu mais le ΔT est inférieur et égal à 4°C.
- Concernant **l'HR**, aux conditions nominales, l'augmentation de la température engendre une diminution de l'HR, pour atteindre une valeur de 55%. Le ΔHR est de 7%. Le fonctionnement à débit réduit provoque une augmentation de l'HR pour atteindre environ 90%. Le ΔHR est de 14%.
- La masse volumique de l'air est restée constante : 1,2 kg/m³.

Premier cas : Consigne d'humidité à 80% + régulation T à 22°C (Groupe Froid).

Ce premier cas de régulation a été observé en deux temps. Tout d'abord, le banc d'essais a fonctionné au débit nominal sans régulation. Ensuite, la régulation de l'HR à 80% a été activée. Enfin, le groupe froid a été mis en route pour refroidir l'air. La durée totale d'observation a été d'environ 11h. Le suivi du débit, de la température et de l'humidité relative est présenté par la **Figure A4 - 4**. Un récapitulatif des paramètres au début et à la fin des différentes étapes de l'essai est présenté dans le **Tableau A4 - 3**.

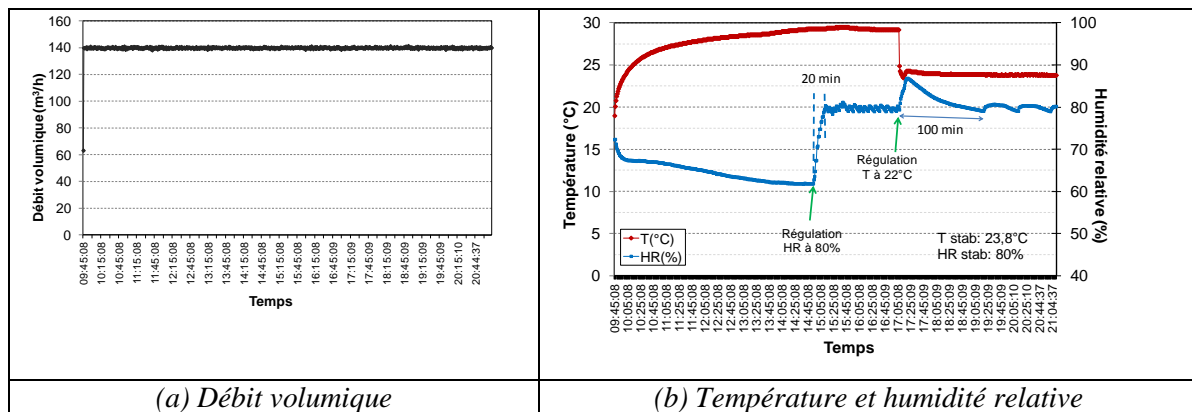


Figure A4 - 4. Suivi du débit, de la température et de l'humidité relative dans le banc, avec des conditions nominales. Effet de l'humidification de l'air.

Tableau A4 - 3. Valeurs des paramètres au début et à la fin des étapes de l'essai à débit nominal avec régulation climatique

	Initial (09h45)	Final (20h30)
Température (°C)	18,9	29°C (sans régulation) puis 24°C (avec régulation de T).
HR (%)	72,3	62% (sans régulation) puis 80% (avec régulation de HR).
Masse volumique (kg/m³)		1,21
Pression absolue (mbar)		1014

Il est possible de conclure que :

- Concernant l'HR, le fait d'humidifier l'air via le système d'injection d'eau goutte à goutte ne provoque aucune perturbation sur la température. Les paramètres d'injection d'eau étaient : 5s d'injection à 800 g/h toutes les 120s. Ces paramètres ont été conservés pour la suite de la validation climatique et pour les essais ultérieurs. L'HR a augmentée de 62 à 80% en 20 min. Le système d'humidification s'active lorsque l'HR est inférieure à 79% et s'arrête lorsque l'humidité est supérieure à 81%.

Durant cette première partie de l'essai, le système de condensation (effet Peltier) n'était pas activé et la température n'était pas régulée. Une fois la consigne atteinte dans le système, l'HR varie entre 78 et 81%, c'est-à-dire une variation de 2%.

- Concernant la **température**, lors de la mise en route du groupe froid, elle a diminué rapidement de 29°C jusqu'à une température de stabilisation de 24°C (ΔT de 5°C). Le système a mis 40 minutes pour se stabiliser. Cette baisse de température a eu un impact significatif sur l'humidité relative. Celle-ci a en effet augmenté jusqu'à 87% en 20 minutes, puis a diminué lentement sous l'effet du fonctionnement du banc (l'effet Peltier n'était pas actif). Après 100 minutes, l'humidité est revenue à sa valeur de consigne.
- Pour éviter l'effet sur l'humidité, il est recommandable de régler tout d'abord la température puis l'humidité.

L'effet de passer d'un débit réduit à un débit nominal a également été étudié pendant 18 h, pour les mêmes consignes d'HR et de température (80% d'HR et température dans le groupe froid de 22°C). Le suivi des paramètres se présente dans la **Figure A4 - 5**. Dans un premier temps, le banc a fonctionné à débit réduit pendant environ 5h avec régulation de l'HR et de la température. La température dans le banc s'est stabilisée rapidement à 22°C. Une heure après, la régulation d'HR s'est mise en route. L'HR initiale était de 90%, donc la régulation a déclenché le séchage à effet Peltier qui a tardé 80 min à sécher l'air jusqu'à la valeur de consigne.

Après environ 4h de fonctionnement, le débit a été augmenté à 140 m³/h. La réponse de la régulation de la fréquence du ventilateur a été rapide. En moins de deux minutes, le banc d'essais a atteint la valeur de consigne du débit. Cette augmentation du débit provoque une augmentation de la température d'une valeur d'environ 22°C à une valeur de 24°C. La régulation répond bien au changement de débit et la seule différence observée est la fréquence d'injection d'eau qui se réalise d'une manière plus espacée dans le temps.

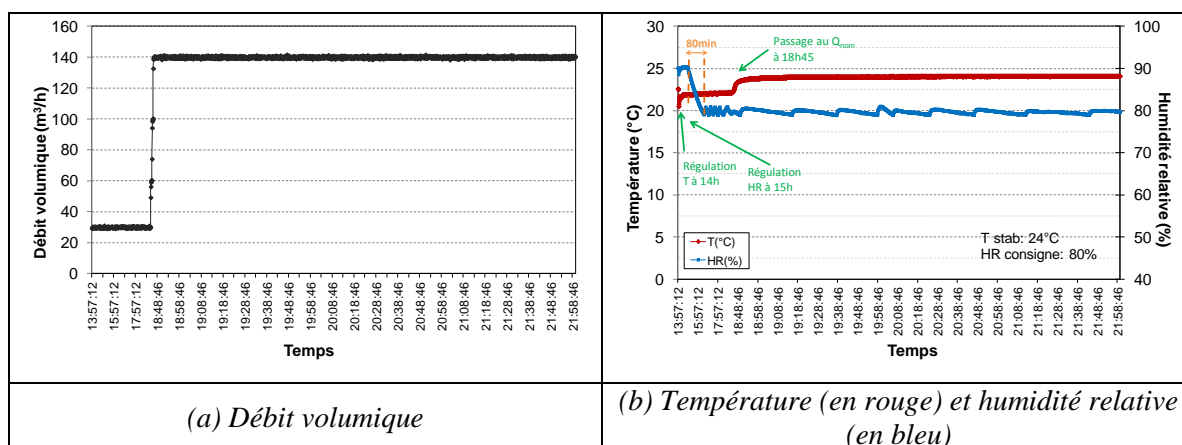


Figure A4 - 5. Suivi du débit, de la température et de l'humidité relative dans le banc pour une consigne de 80% d'HR et température du group froid à 22°C. Effet de l'augmentation du débit.

Un récapitulatif des conditions au début et à la fin de l'observation est présenté dans le **Tableau A4 - 4**.

Tableau A4 - 4. Paramètres suivis au début et à la fin de l'observation

	Initiale (13h56)	Final (08h11, lendemain)
Température (°C)	22,6	24 (avec régulation)
HR (%)	90	80 (avec régulation)
Masse volumique initiale (kg/m ³)	1,2	
Pression absolue (mbar)	997-1007	

L'effet de passer du débit nominal au débit réduit sur les paramètres climatiques a été également observé pendant 26h (cf. **Figure A4 - 6**). Dans un premier temps, le banc d'essais fonctionnait à débit nominal à 24°C et à 60% comme consigne d'HR. Cette consigne a été modifiée à 80% et le banc a tardé 15 min à atteindre cette nouvelle valeur. Ensuite, le débit a été diminué à 30 m³/h. Ce changement a provoqué une diminution de la température à environ 22°C. Un récapitulatif des conditions peut être observé dans le **Tableau A4 - 5**.

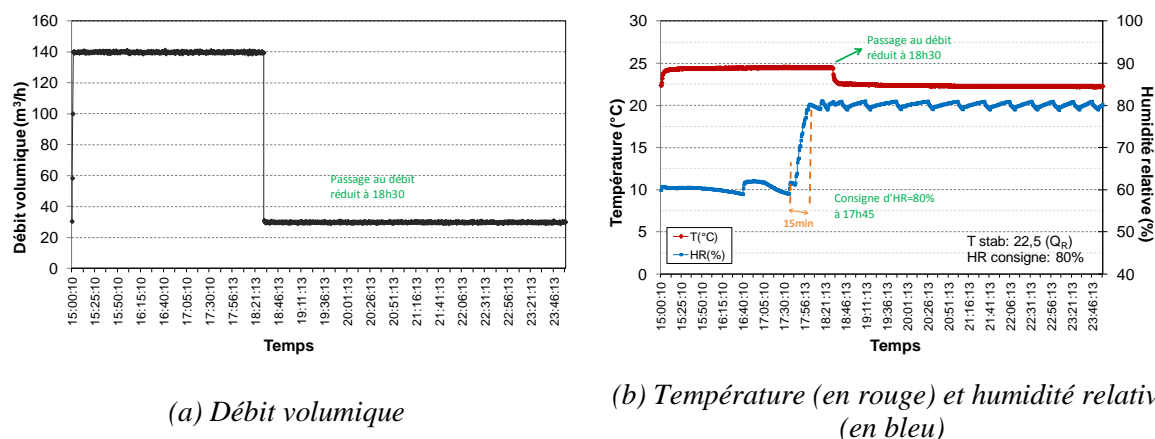


Figure A4 - 6. Suivi du débit, de la température et de l'humidité relative dans le banc pour une consigne de 80% d'HR et de température du group froid à 22°C. Effet de la diminution du débit.

Tableau A4 - 5. Paramètres suivis au début et à la fin de l'observation

	Initiale (17h44)	Final (19h20, lendemain)
Température (°C)	24,5	22,4
HR (%)	62	80
Masse volumique initiale (kg/m ³)	1,2	
Pression absolue (mbar)	1009-1019	

Deuxième cas : Humidité de consigne à 60% + régulation T à 22°C (GF).

L'observation de la régulation de l'HR à 60% pour les conditions nominales a été réalisée pendant 24h (cf. **Figure A4 - 7**). L'HR initiale du banc était d'environ 80% lors que le sècheur s'est activé. Le système a mis 14 h pour atteindre la valeur souhaitée. Aucun changement ne s'est aperçu sur la température. Un récapitulatif des conditions au début et à la fin de l'observation est présenté dans le **Tableau A4 - 6**. Un souci informatique a eu lieu pendant cet essai, ce qui a permis de considérer la possibilité de connecter l'ordinateur qui gère le système à un réseau électrique sécurisé pour éviter la perte des données.

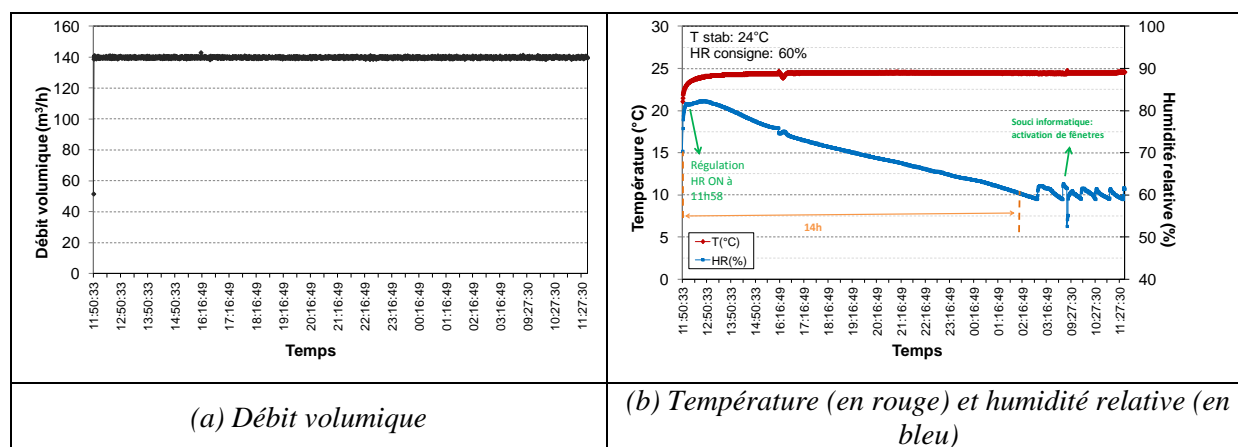


Figure A4 - 7. Suivi du débit, de la température et de l'humidité relative dans le banc, pour de conditions nominales. Effet du séchage de l'air.

Tableau A4 - 6. Paramètres suivis au début et à la fin de l'observation

	Initiale (11h50)	Final (11h40, 23/10/12)
Température (°C)	21	24
HR (%)	69	60 (avec la régulation)
Masse volumique de l'air (kg/m ³)	1,2	
Pression absolue (mbar)	1015-1020	

Pour ces conditions de consigne d'HR à 60%, l'effet des changements de débit ont été observés (cf. **Figure A4 - 8**). Un cycle débit nominal / débit réduit / débit nominal ($140\text{m}^3/\text{h} + 30\text{m}^3/\text{h} + 140\text{m}^3/\text{h}$) a été simulé. C'est observation s'est réalisée pendant 6h. Dans un premier temps, le pilote fonctionnait à débit nominale, à 24°C de température et 60%. Le fait de diminuer le débit, a eu pour conséquence la diminution de la température à environ 23°C. La régulation de l'HR arrive à maintenir la valeur de consigne avec une variation de $\pm 1\%$. Le passage au débit nominal, provoque à nouveau une augmentation de la température à environ 24°C. Un récapitulatif des conditions initiales et finales est présenté dans le **Tableau A4 - 7**.

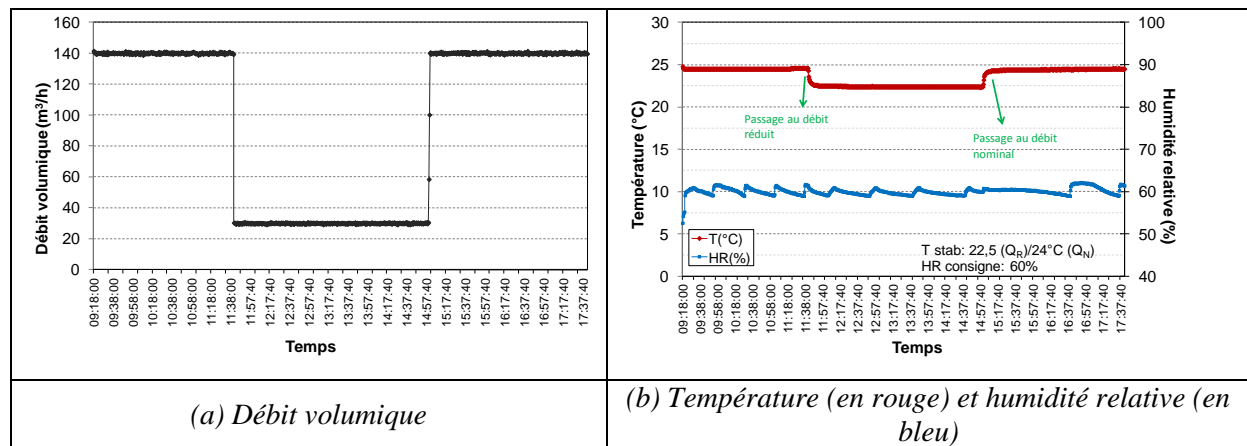


Figure A4 - 8. Suivi du débit, de la température et de l'humidité relative dans le banc, pour une consigne d'HR de 60%. Effet du cycle marche nominale/marche réduite.

Tableau A4 - 7. Paramètres suivis au début et à la fin de l'observation

	Dans le banc	
	Initiale (11h40)	Final (17h42)
Température (°C)	24,6	24 (à débit nominal) et 23 à débit réduit.
HR (%)	61	61
Masse volumique de l'air (kg/m³)	1,2	
Pression absolue (mbar)	1018-1021	

Conclusions générales :

- La régulation d'HR se réalise correctement pour les conditions étudiées. La variation est de $\pm 1\%$ par rapport à la valeur de consigne.
- La régulation est capable de maintenir la température dans le banc inférieur à 25°C avec une température de consigne de 22°C dans le group froid.
- Il a fallu refroidir l'air dans toutes les conditions étudiées. En conséquence, la résistance chauffante n'a jamais été utilisée.
- Il est recommandé de régler d'abord la température, puis d'ajuster l'humidité.
- Pour l'humidification de l'air, les paramètres d'injection d'eau retenus sont : 5 s d'injection à 800 g/h tous les 120s.
- 15 min sont nécessaires au système pour augmenter l'HR d'une valeur de 60% à 80%. Pour le séchage, il faut environ 14 h pour passer de 80% à 60%.

- Le PC a été connecté sur un réseau électrique sécurisé afin d'éviter de perte de données au cas de coupures électriques.

Une modification a été également faite au niveau du réservoir d'eau qui humidifie l'air. Un tube plastique a été installé pour pouvoir vérifier le niveau d'eau régulièrement. L'autonomie de ce réservoir est de 4 jours s'il travaille en continu.

Annexe 5 Analyse microbiologique d'un filtre provenant d'une CTA d'extraction d'un bâtiment tertiaire

Un filtre plan plissé d'efficacité G4 utilisé provenant de la CEX9 (CTA d'extraction d'air des locaux), a été analysé au laboratoire afin de connaître la concentration de microorganismes présents dans le filtre. Cette expérience a deux objectifs :

- Vérifier l'homogénéité ou l'hétérogénéité de collecte d'espèces microbiennes sur la surface du filtre
- Qualifier la flore microbienne collectée sur le filtre

Le filtre récupéré était en fonctionnement depuis environ 1 an. 9 échantillons ont été prélevés suivant la répartition suivante :

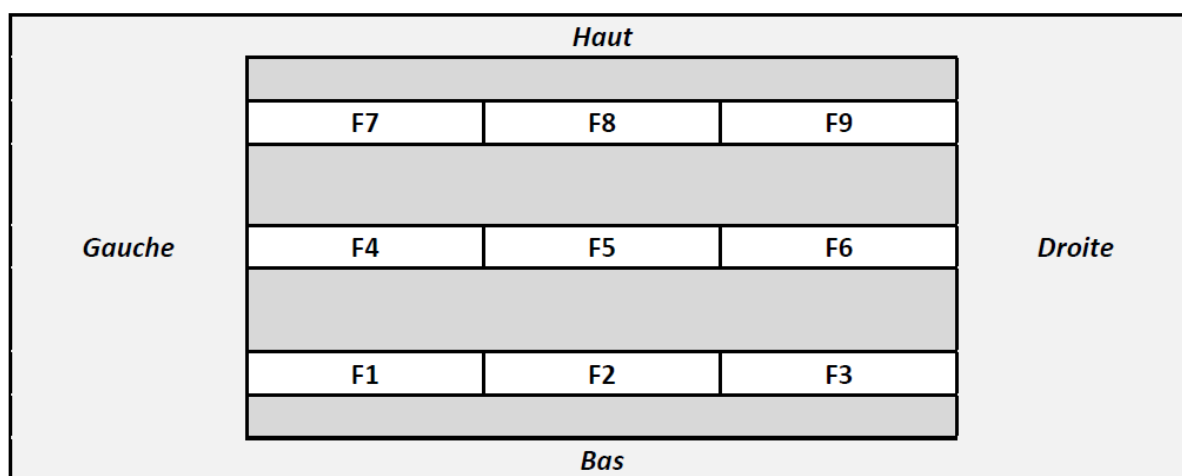


Figure A5 - 1. Schéma de prélèvement des échantillons sur le filtre G4 extraction

Chaque échantillon a subi le traitement pour l'extraction des microorganismes. Le protocole est le même que celui décrit dans le chapitre 2 de cette thèse.

Ensuite, 5 mL de la solution d'extraction correspondant à chaque échantillon ont été pris pour créer une solution composite des 9 extraits. A la fin, un mélange composite de 45 mL est obtenu. Un schéma qui présente ce mélange composite est présenté sur la figure ci-dessous :

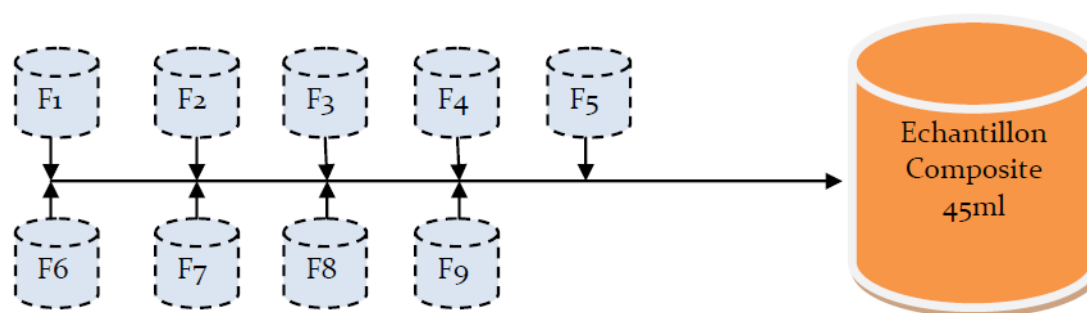


Figure A5 - 2. Composition de l'échantillon composite

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant:

Tableau A5 - 1. Concentration en microorganismes cultivables totaux sur le filtre G4 extraction.

	Concentration moyenne (UFC/cm ²)		
	Czapek	Gélose nutritif	Rose Bengal
F1	6,6E+02	1,7E+03	1,1E+03
F2	1,3E+03	1,5E+03	1,8E+03
F3	1,0E+03	1,4E+03	1,4E+03
F4	8,5E+02	1,7E+03	2,7E+03
F5	1,0E+03	1,1E+03	1,3E+03
F6	8,6E+02	1,7E+03	1,3E+03
F7	1,1E+03	2,2E+03	1,5E+03
F8	1,2E+03	3,2E+03	1,7E+03
F9	2,0E+03	2,3E+03	1,5E+03
Moyenne	1,1E+03	1,9E+03	1,6E+03
Ecart type	3,9E+02	6,3E+02	4,7E+02
Mélange composite	1,9E+03	3,3E+03	1,5E+03
	1,6E+03	1,7E+03	1,5E+03
	1,1E+03	2,4E+03	1,9E+03
Moyenne	1,5E+03	2,4E+03	1,6E+03
Ecart type	3,9E+02	7,8E+02	2,1E+02

Les résultats démontrent que la concentration de microorganismes cultivables totaux semble relativement homogène sur la surface du filtre. De plus, le fait de créer un mélange composite des extraits des différents échantillons représente de manière correcte la concentration moyenne des microorganismes. Ce protocole d'échantillonnage des filtres a été employé pour l'analyse du filtre G4-CEX9 de ces travaux.

De plus, les colonies ont été isolées et identifiées. Les colonies isolées se présentent sur la figure suivante :

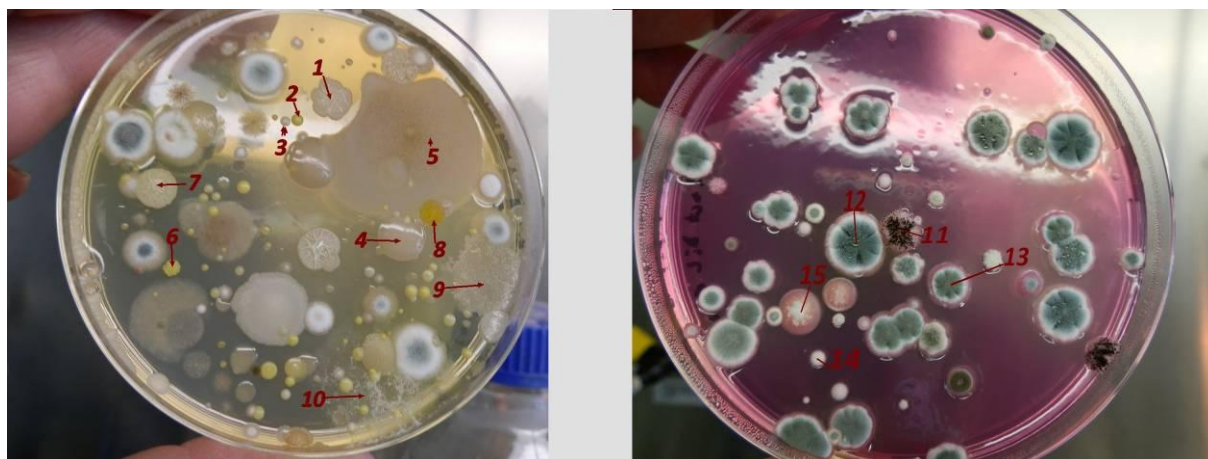


Figure A5 - 3. Colonies des microorganismes cultivables extraits du filtre G4 extraction.

Les colonies identifiées sont :

Tableau A5 - 2. Colonies identifiées sur le filtre G4 extraction

Colonie	Espèces	Règne	Famille	division
1	<i>Bacillus altitudinis</i>	Bacteria	Bacillaceae	Fimicutes
2	<i>Micrococcus luteus</i>	Bacteria	Micrococcaceae	Actinobacteria
3	<i>Micrococcus luteus</i>	Bacteria	Micrococcaceae	Actinobacteria
4	<i>Bacillus butanolivorans /simplex</i>	Bacteria	Bacillaceae	Fimicutes
5	<i>Bacillus pumilus ou safensis</i>	Bacteria	Bacillaceae	Fimicutes
6	<i>Micrococcus luteus</i>	Bacteria	Micrococcaceae	Actinobacteria
7	<i>Bacillus megaterium</i>	Bacteria	Bacillaceae	Fimicutes
8	<i>Micrococcus luteus</i>	Bacteria	Micrococcaceae	Actinobacteria
9	<i>Bacillus licheniformis</i>	Bacteria	Bacillaceae	Fimicutes
10	<i>Sordaria sp ou Neurospora sp</i>	Fungi	Sordariaceae	Ascomycota
11	<i>Aspergillus niger ou phoenicis</i>	Fungi	Trichrocomaceae	Ascomycota
12	<i>Penicillium chrysogenum</i>	Fungi	Trichrocomaceae	Ascomycota
13	<i>Penicillium decumbens</i>	Fungi	Trichrocomaceae	Ascomycota
14	<i>Aspergillus versicolor</i>	Fungi	Trichrocomaceae	Ascomycota
15	<i>Penicillium chrysogenum</i>	Fungi	Trichrocomaceae	Ascomycota

Thèse de Doctorat

Luisa GONZALEZ

Influence de la gestion des centrales de traitement d'air des réseaux de ventilation de bâtiments sur le développement d'aérosols microbiens

Influence of Air Handling Units (AHU) management of ventilation systems of buildings on microbial aerosols behavior

Résumé

Les performances de filtration des filtres de CTA vis-à-vis de particules et d'aérosols microbiens (AM) ont été étudiées ainsi que l'influence des conditions opératoires sur le comportement de microorganismes collectés sur les filtres. A l'échelle du laboratoire, une mini CTA ayant deux étages de filtration en série a été développée et validée pour l'étude de filtres prototypes ayant des géométries industrielles. Trois types de filtres de différentes efficacités ont été considérés : G4, F7 et F9 selon la norme EN 779. Deux configurations de filtres ont été étudiées : 1) G4 plan plissé/F7 à poches et 2) F7/F9 à poches. Les filtres ont été colmatés séquentiellement par des particules d'alumine, qui assurent une fraction minérale, puis du riz micronisé qui apporte le champignon *Penicillium chrysogenum* et assure une fraction organique agissant comme substrat pour les microorganismes. Enfin, un AM composé d'endospores de *Bacillus subtilis* et de spores d'*Aspergillus niger* a été nébulisé pour la contamination des filtres. Après colmatage, des périodes de marche/arrêt de la ventilation de différentes durées (10 j ou 6 semaines) ont été simulées. Lors des reprises de la ventilation, des comptages de particules et d'AM en aval des filtres ont été effectués. Les principaux résultats sont : (i) les filtres placés en 2^{ème} étage présentent un colmatage plus faible que ceux du 1^{er} étage de filtration, (ii) survie de *B. subtilis*, croissance de *P. chrysogenum* et décroissance d'*A. niger* sur les filtres quelle que soit la période d'arrêt de ventilation étudiée, et (iii) lors des reprises de ventilation, il n'a pas été observé de relargage d'AM pour la fraction échantillonnée.

D'autre part, deux CTA à pleine échelle ont été étudiées pendant 6 mois. Une CTA ayant deux étages de filtration avec une configuration G4 plan plissé/F7 à poches, traite l'air extérieur et le souffle vers des locaux desservis. L'autre CTA correspond à l'extraction de l'air vicié d'un local pour le rejeter vers l'extérieur. La perte de charge des filtres, l'humidité relative, et la température de l'air ont été suivies en continu. L'efficacité des filtres vis-à-vis des particules et des aérosols microbiens a été mesurée une fois par mois. Une méthodologie originale de suivi mensuel de la concentration des microorganismes collectés sur les filtres a été mise en œuvre. Les principaux résultats sont : (i) faible évolution de la perte de charge du filtre placé en 2^{ème} étage, (ii) efficacité des filtres G4 comparable à celle des filtres G4 prototypes, (iii) efficacité du filtre F7 plus faible que celle des filtres prototypes, ce qui peut être expliqué par une différence de vitesse de filtration entre les deux échelles, (iv) le filtre G4 de la CTA-extraction contient une concentration de microorganismes 10 fois plus élevée que celle du filtre G4 de la CTA-soufflage après 6 mois de fonctionnement.

Mots clés : Filtration de l'air, CTA, aérosols microbiens

Abstract

Filtration performances of Air Handling Units (AHU) filters regarding particles and microbial aerosols have been studied, as well as the influence of the AHU operational conditions on behavior of microorganisms collected on the filters. A lab-scale AHU with two successive filtration stages was developed and validated for the study of prototype filters with industrial geometries. Three types of filters of different efficiency have been considered: G4, F7 and F9 according to EN 779 Standard. Two configurations of filters were considered: 1) G4 pleated/F7 bag and 2) F7/F9 bag. Filters were sequentially clogged by alumina particles which assured a mineral fraction, and then by micronized rice particles which provides the fungi *Penicillium chrysogenum* and assures an organic fraction which acts as a substrate for microorganisms. Finally, a microbial aerosol composed by endospores of *Bacillus subtilis* and spores of *Aspergillus niger* was nebulized for filters contamination. After clogging, stops and restarts of ventilation were simulated for different durations (10 days or 6 weeks). During restarts of ventilation, particles and microbial aerosols samplings were performed downstream of the filters. Main results are: (i) level of clogging is significantly less important for the 2nd filtration stage than for the first one, (ii) survival of *B. Subtilis*, growth of *P. Chrysogenum* and decline of *A. niger* on the filters whatever the period of time studied, and (iii) during restarts of ventilation, microbial aerosols releasing was not detected for sampled fraction.

Moreover, two full-scale AHU were studied during 6 months. One of the AHU studied is equipped with two filters in series: a G4 pleated filter in 1st stage and a F7 bag filter in 2nd stage. This AHU treats the outdoor air to blow it towards the indoor environments. The other one extracts the indoor air to reject it back outdoors. The filters pressure drop, relative humidity and temperature of the air were measured continuously. Filters efficiency regarding particles and microbial aerosols were measured once a month. An original methodology for the monthly estimation of the concentration of microorganisms on the filters was implemented. Main results are: (i) no significant evolution of the filter pressure drop in 2nd stage, (ii) efficiency of G4 filters are comparable to the prototype filters one, (iii) efficiency of F7 filters are lower than prototype filters one, which can be explained by differences of filtration velocity between the two scales, (iv) after 6 months of operation, concentration of microorganisms on G4 filter of the AHU of extraction is 10 times higher than the G4 filter one of AHU who treats outdoor air.

Key words: Air filtration, AHU, microbial aerosols